

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS EN
TELECOMUNICACIÓN



CARACTERIZACIÓN DINÁMICA DE PARTÍCULAS
MAGNÉTICAS Y SU USO EN APLICACIONES
BIOMÉDICAS

TESIS DOCTORAL

Rubén Antonio García Mendoza
Maestro en Ciencias en Telecomunicaciones

2012

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA FOTÓNICA Y
BIOINGENIERÍA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS EN
TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

CARACTERIZACIÓN DINÁMICA DE PARTÍCULAS
MAGNÉTICAS Y SU USO EN APLICACIONES
BIOMÉDICAS

TESIS DOCTORAL

Autor:

Rubén Antonio García Mendoza
Maestro en Ciencias en Telecomunicaciones

Director:

José Javier Serrano Olmedo
Doctor Ingeniero de Telecomunicación

2012

Resumen de la tesis de Rubén Antonio García Mendoza, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de DOCTOR en INGENIERÍA BIOMÉDICA. Madrid, España. Abril de 2012.

CARACTERIZACIÓN DINÁMICA DE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS Y SU USO EN APLICACIONES BIOMÉDICAS

Descriptor —Partículas magnéticas, interacción magnética, guiado, focalización, velocidad magnética, aplicaciones biomédicas, desprendimiento de retina, dispositivo ocular, presión magnética.

El uso de las partículas magnéticas ha venido a más durante los últimos 10 años. Lo anterior ha estado condicionado por factores como la amplia investigación en materiales a nivel atómico, los retos propuestos por las diferentes áreas de investigación donde los niveles nanométricos cobran importancia, la inherente innovación tecnológica que pueden aportar a la industria dichas escalas y finalmente, el impacto socioeconómico que pueden tener estos avances tecnológicos. Sin embargo, la traslación a la industria de los avances tecnológicos se ha visto limitada por la falta de estrategias, ya que el 88% del conocimiento se queda en Universidades y Centros de Investigación y el resto, 12%, pasa a la industria o es obtenido en ella. En este trabajo de investigación se ha tratado de completar el círculo de idea, conceptualización, generación de conocimiento, prototipo, prueba in vitro y prueba in vivo; todo ello para dejar el menor espacio posible entre Investigación e Industria. Se ha fabricado un recinto que permite la observación del comportamiento de las partículas magnéticas cuando están inmersas en un medio con viscosidad controlada y con una fuente magnética estática. De la observación experimental se han encontrado fenómenos magnéticos como la aglomeración y la auto-organización, que han sido aprovechados, no solo para ofrecer una solución alternativa a la corrección del desprendimiento de retina, sino también para promover las mejoras de métodos de separación y/o filtrado celular, ayuda en correcciones ortopédicas o en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades degenerativas. Particularizando en la corrección del desprendimiento de retina, se ha desarrollado y patentado un Dispositivo Ocular cuya función es la de tapón del agujero retiniano, ayudando en la cicatrización de la retina. Dicho dispositivo ha sido evaluado en conejos albinos neozelandeses obteniéndose un éxito en la reaplicación de la retina del 80% y resultando su toxicidad en condición difusa tras evaluación anatomopatológica. Así mismo, el ferrofluido diseñado y fabricado se ha localizado en la zona de interacción magnética siempre y su disposición ha sido en el mayor de los casos en forma de placa pero también se han formado anillos; lo anterior no ha afectado en ningún sentido el éxito en la reaplicación de la retina. Por otro lado, no se han encontrado indicios de siderosis en la zona de interacción magnética, sus alrededores o el resto del globo ocular; ni las células han presentado apoptosis

inducida por los materiales introducidos en el ojo. Sin embargo, se ha encontrado una fuerte necrosis inducida por la presión ejercida sobre la retina por el dispositivo ocular, evidenciando la necesidad de un mejor control de dicha presión. Tras la caracterización de los copos y la presión que éstos ejercen, se ha podido identificar que el dispositivo ocular se puede sintonizar para inducir una presión entre 0.5 y 2.5 mmHg; por tanto se puede vislumbrar que es posible minimizar la muerte celular causada en las células retinianas. Finalmente, tras la experimentación con conejos se ha observado que el dispositivo ocular resuelve los problemas inducidos por las siliconas o los gases e inclusive aporta ventajas competitivas de alto valor añadido como: no requerir de posiciones incómodas en el post-operatorio, no modifica las propiedades ópticas del ojo ya que no es necesario dejar silicona o gases en el interior del ojo, se pueden sellar múltiples agujeros retinianos, corrección de desprendimiento de retina inferior sin complicaciones asociadas, etc.; en definitiva mejora la calidad de vida domiciliaria del paciente además de solventar los problemas inducidos por las soluciones actuales.

Abstract of the thesis presented by Rubén Antonio García Mendoza, as a partial requirement to obtain the DOCTOR degree in BIOMEDICAL ENGINEERING. Madrid, Spain. April 2012.

DYNAMIC CHARACTERIZATION OF MAGNETIC PARTICLES AND THEIR USE IN BIOMEDICAL APPLICATIONS

Keywords — Magnetic particles, magnetic interaction, guidance, focusing, biomedical applications, retinal detachment, ocular device, magnetic pressure.

The using of magnetic particles has become more important during last 10 years. This event has been conditioned by several factors like a wide researching on materials at atomic level, the challenges proposed by different research areas where nanometric levels became important, the inherent technological innovation to the industry and finally, the socioeconomic impact of these kinds of technologies. However, the nanotechnological advances have not been well addressed to the industry since 88% of the acknowledge keeps on Universities and Research Centers, and the remaining 12% goes through the industry or is obtained in it. In this research work, we have tried to complete the entire process about idea, concept, acknowledge generation, prototyping and in vitro and in vivo testing; all to leave as little space as possible between Research and Industry. We have built an experimental hall which allows us the observation of magnetic particles' behavior when are immersing in a controlled viscous medium and under a static magnetic field. The experimental observation has been useful to identify and use two magnetic phenomena: agglomeration and self-organization; no only for retinal detachment, but also to improve cellular separation and/or filtered methods, orthopedic solutions or the diagnostic and treatment of degenerative diseases. Particularizing on retinal detachment, we have developed and patented an Ocular Device which its function is acting like a tampon of the retinal hole for helping with the scarring retina. The device has been evaluated in animals and the results show that we can achieve a success of 80% before rabbit's death and non cell apoptosis, only necrosis, over the retina attached by the ocular device after anatomo-pathological evaluation. Also we have identified a diffuse toxicity after anatomo-pathological evaluation, so more experimenting must be proposed. Otherwise, the ferrofluid has been localized where the magnetic interaction area is located and its deposition has been in most cases plaque shape like but rings have also been observed; this has not affected in any way the successful reattachment of the retina. On the other hand, we have not found any evidence of siderosis in the magnetic interaction zone, near of or some other place of the ocular globe; and we did not find any apoptosis induced by the materials inserted within the eye. However full necrosis, exactly on the magnetic interaction zone, has been found and induced by the pressure exerted over the retina by the ocular device, evidencing the needing of its better control. After flakes' characterization and its

pressure exerted, we identified that the ocular device can be tuned in order to induce a pressure between 0.5 and 2.5 mmHg; therefore we can perceive that death caused to the retinal cells can be minimized. Finally, the experimentation has shown that the ocular device solves all problems induced by silicone or gases and even contributes with some other competitive advantages of high added value like: no uncomfortable postoperative positions, it does not modify any optical property of the eye because there is no need of leaving silicone or gases inside the eye, many holes can be sealed, the inferior retinal detachment can be solved without any complications, etc.; definitively the ocular device improves patients' quality of life.

Dedicatoria

A MI AMADA FAMILIA

ALEJANDRA MINA ROSALES,
DANIEL ITZAMMA GARCÍA MINA
E
ITZAE GARCÍA MINA

A MIS PADRES

ELOISA MENDOZA OCARIZ
Y
JOSÉ ANTONIO GARCÍA LÓPEZ

A MIS HERMANOS Y LINDA SOBRINA

ERIKA DEL ROCÍO GARCÍA MENDOZA,
HÉCTOR ANTONIO GARCÍA MENDOZA
Y
ZOE GARCÍA NAVARRETE

A LAS FAMILIAS

MENDOZA LARA,
MENDOZA MARTÍNEZ,
MINA ROSALES
Y
ZAMUDIO MINA

A MI ASESOR DE TESIS

DR. JOSÉ JAVIER SERRANO OLMEDO

A LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE TESIS

DR. FRANCISCO DEL POZO GUERRERO

DR. ENRIQUE J. GÓMEZ AGUILERA
DR. MIGUEL MANSO SILVÁN
DR. JOSÉ FRANCISCO MUÑOZ NEGRETE
DR. ÁLVARO MUÑOZ NOVAL
DRA. LOURDES ISABEL CABRERA LARA
DR. ALBERTO MARTÍNEZ SERRANO

Agradecimientos

A Dios por otorgarme el regalo de la vida, por haberme hecho nacer en un hogar lleno de amor, entendimiento, disciplina, apoyo incondicional y alguno que otro consentimiento. Por permitirme formar una familia llena de amor y comprensión, a la cual espero poder entregarle lo mejor de mi persona.

A la persona que amo sobre todo, Alejandra Mina Rosales, porque siempre has estado a mi lado y me has sabido detener y motivarme cuando es preciso; porque en estos cuatro años me has concedido la dicha de ser Padre dejando en cada uno de ellos una parte íntima de tu ser. Por creer en mí y darme las oportunidades necesarias para demostrarte que soy capaz y un Esposo del cual estés orgullosa. Por ser mi amiga y confidente, dando siempre un buen consejo que te sale del corazón, porque eso eres tú: Un corazón con pies.

A mis dos hijos, Daniel Itzamma e Itzae, que aunque no sean capaces de leer estas palabras, son por lo que cada día me levanto y trato de mejorar el Mundo que habitarán.

A mis amados padres Eloisa y José Antonio, por llenarme con su amor, con el cual he aprendido a llenar de amor a los que me rodean, por ser mis guías, porque siempre tienen el consejo adecuado en el momento ideal. Por su apoyo incondicional durante toda mi vida y de manera especial por su apoyo en esta nueva etapa concluida. Sepan que sin ustedes este sueño de Alejandra y mío no hubiera sido posible.

A mis dos hermanos Erika del Rocío y Héctor Antonio, y mi sobrina Zoe; ustedes forman parte muy importante en mi vida y espero que tengan siempre presente que los amo y que siempre que esté en mis manos saldré por ustedes incondicionalmente. Por sus palabras de aliento en los momentos que se necesitan y obviamente por aquellos momentos divertidos, tristes y de enojos que hemos pasado durante todos estos años.

A la Familia Mendoza Lara: mi tío Eduardo, mi tía Rosario y mis primos Paola y Lalo[†]. Por ser mi segunda familia, porque siempre se han preocupado por mí y los que me rodean, y me han dado el regalo de su amistad y cariño, es completamente recíproco, los amo familia.

A la Familia Mendoza Martínez, que siempre están presentes en nuestras oraciones y pensamiento. Por su constante ánimo para finiquitar esta etapa y porque esperamos formar parte de su vida en un futuro próximo. En especial a Edgar, por ser mi hermano adoptivo, confidente y amigo incondicional. Espero que estas palabras alienten nuestra relación interfamiliar.

A la Familia Mina Rosales, Sra. Alejandra y Sr. Sergio[†], que siempre nos han apoyado incondicionalmente y han estado al pendiente de nosotros para crecer como familia, y a pesar de la distancia que nos ha separado nunca la hemos sentido porque cada que hablamos nos hacen sentir en casa.

A la Familia Zamudio Mina: Berenice, Ernesto y Leonardo; les agradecemos habernos hecho parte de su familia al honrarnos con ser padrinos del enano. Siempre están en nuestros pensamientos y esperamos seguir compartiendo momentos como los que hasta ahora nos han unido.

A mi amigo y hermano Raael Urbina García, por formar parte de mi vida, porque a través de tus ojos, mente y corazón he aprendido otras formas de ver la vida y que aunque hemos tenido nuestras diferencias y divorcios seguimos siempre al pie del cañón. Te queremos viejo.

A mis amigos y hermanos de vida: Gerardo Ocampo, Antonio Quillares y Lourdes Colmenero. Espero que la vida nos brinde la oportunidad de compartir más cosas de las que llevamos hasta ahora, los quiero.

A mis abuelos, tíos y primos, por esos ratos de diversión y algunos otros de tristezas que hemos pasado a lo largo de nuestras vidas, y ojalá sigamos en contacto durante muchos años más.

A Leonardo Fabio Yepes Arbeláez, por su incondicional amistad y por ofrecerme la oportunidad de compartir una difícil pero productiva estancia en CICESE, llena de buenos y regulares momentos pero que siempre supimos encontrar el punto medio para lograr los objetivos que se buscaban. Porque me enseñó que todo en esta vida tiene solución, porque es una persona que ante nada se deja caer. Gracias por seguir siendo parte de mi vida.

Al Dr. David H. Covarrubias Rosales, por siempre creer en mí, por su apoyo incondicional durante mi estancia en CICESE y posterior, por sus consejos en el momento exacto, por enseñarme a guiarme en el difícil paso del doctorado, y porque a través de usted he aprendido que de la forma cómo se inician las cosas, serán los resultados que se obtendrán. Pero indiscutiblemente, por su valiosa amistad y ojalá no sea pasajera.

Al Dr. José Javier Serrano Olmedo, que además de haber sido mi Director de Tesis Doctoral, me ha demostrado que siempre hay un punto medio entre lo profesional y lo personal. Gracias por tu orientación y motivación en los momentos requeridos, por decirme las cosas de frente cuando era necesario y no dejarme volar sin alas. Por apoyarme incondicionalmente en cada momento con las iniciativas propias. Por tenerme la confianza para desarrollar y poner en marcha proyectos, yo sé que no todas las decisiones han sido las correctas pero es así como me has dejado aprender. Por todos esos momentos de divagación profunda que han dado paso a este documento. Mil gracias por tu amistad y de corazón deseo que no sea pasajera, que sigamos compartiendo momentos.

A la Familia Quintanilla Charre: Joel, Araceli y Leonardo. Gracias familia por todos esos momentos que compartimos, buenos y malos. Por las noches agradables en vela y por dejar que mi familia sea parte de la suya. Por su amistad que espero no termine.

A Cristina Sánchez y Javier Collado, sois una pareja que MOLA MOGOLLÓN. Gracias por dejarnos ser parte de ese momento tan especial como es la unión en matrimonio. Pero sobre todo por dejarnos entrar en sus vidas

brindándonos su amistad, que nos la llevamos a donde estemos y ojalá el tiempo no la merme.

A José García Salas por su amistad incondicional desde que llegamos a España, haciendo nuestra estancia mucho más placentera. Porque me has demostrado que estás ahí en las buenas y en las malas.

A Álvaro Cortés y José Vázquez, quienes formaron parte de una etapa diferente a la de investigación. Por estar siempre al pie del cañón para cualquier cosa. Por sus enseñanzas, comentarios y esos momentos tan agradables que pasamos. Son unas personas inigualables, que siempre tendrán éxito en lo que se propongan porque son tenaces y han sabido contagiarme de ese espíritu.

A Nazario Félix González, por compartir su estancia en Madrid y mostrarme otra forma de ver las cosas. Por los momentos compartidos y las pláticas, pero sobre todo por tu amistad.

Al Dr. Álvaro Muñoz Noval por tu amistad, por esos cortos pero sustanciales momentos que hemos compartido. Por tus enseñanzas tanto en lo académico como en lo personal. Ojalá que esto vaya a más y podamos seguir colaborando y compartiendo vida. Sigue como hasta ahora y verás que todo el esfuerzo se verá recompensado en su momento, eres además de un excelente ser humano, un investigador con futuro, que ve más allá de lo evidente y que es capaz de romper estándares.

Al Dr. Miguel Manso por su apoyo, guía y enseñanza. Gracias por compartir ideas y comentarios, enriqueciendo mi estancia en Madrid y mostrándome una nueva forma de atacar problemas y encontrar soluciones. Espero poder seguir en contacto y aprovechar toda tu experiencia.

A los Médicos Diego Ruiz Casas y Diego Losada Bayo, por dejarme compartir quirófano con ustedes, que a su vez ha dado pauta al nacimiento de una amistad que espero no sea efímero. Tengo la esperanza de poder seguir colaborando con ustedes ya que son, además de grandes personas, unos médicos abiertos a la mejora de las técnicas comunes, que tienen una visión nueva de la oftalmología y eso los llevará a algo grande. Gracias por confiar en mí para los desarrollos tecnológicos que propusieron.

Al Dr. Francisco Muñoz Negrete, por depositar su confianza en mí para la generación de nuevas tecnologías y darme la oportunidad de colaborar con su grupo de oftalmología.

Al Dr. Enrique Gómez, que desde un principio me tendió la mano para desarrollarme como investigador, brindándome su confianza y dándome apoyo cuando era necesario.

A la Dra. Elena Hernando, por ser como es. No tengo palabras para agradecer todo lo que me ha enseñado. Que siempre tiene el comentario oportuno para la situación y siempre tiene una palabra de aliento para seguir adelante.

Al Dr. Francisco del Pozo por sus atenciones desde el momento de la aceptación para la estancia de doctorado en el GBT hasta su culminación. Por brindarme la oportunidad de aprender de él y todas las personas que lo rodean.

Al Dr. Ceferino Maestú, por sus pláticas e intercambio de ideas que siempre resultan en algo productivo y a tomar en cuenta. Gracias además por su amistad.

A la Dra. Gema García, porque ha hecho la estancia en España más placentera. Por esos reducidos pero sustanciales momentos que hemos podido compartir. Espero que la relación no se quede en Madrid y prospere, tanto en lo profesional como en lo personal.

A la Dra. Lourdes Isabel Cabrera Lara por su amistad. Por haber compartido su estancia en Madrid conmigo. Porque me ha mostrado otra forma de ver las cosas a través de sus ojos. Ojalá prospere nuestra relación a nivel personal y profesional en donde quiera que estés.

Al Dr. Daniel González por su paciencia y disposición para ayudarme y mostrarme una cara diferente de las técnicas biológicas de experimentación in vitro.

A la Dra. Milagros Ramos por su paciencia y disposición para ayudarme cuando más lo necesitaba en el área de cultivos, por su completa entrega para sacarme de dudas.

A todos los miembros del comité de tesis y personal del GBT y CTB por la ayuda, orientación y ánimos otorgados para la terminación exitosa de mi proyecto de Tesis de Doctorado.

A todos mis amigos, viejos y nuevos, a todos ellos les ofrezco mi amistad incondicional. Espero que no se me olvide mencionar a nadie: Fidel, David Rincón, Donato Aguayo, Antonio Arreguín, Chucho Cruz, Emmanuel Rangel, Mauricio Paredes, Charly Martínez, Diana Arroyo, Alex Aguilera, Aurora Martínez, los hermanos Vite Frías, Santiago Camacho y Familia, Héctor Estrada, Ramón Maldonado, Jorge Acosta, Lis Tamayo, María Corona y familia, Joel Ruiz, Magali, Edgar, Richard Torrealba, Jorge Sánchez, Edna Tamariz, Iván Sandoval, Javier Félix, Lorena Urbano y Wilmar, Vicente Ferro, Carolina y Luis, Rodolfo, Jose y Elena, Álvaro Baeta, Tamara, Jorge Crespo, Aleksandar Jevtic, Antonio Cobo, Ángel, Ana Bea; a todos ellos les doy infinitas gracias por su amistad y les deseo que todo lo que se propongan lo logren.

A todo el cuerpo administrativo y académico del Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, del Centro de Tecnología Biomédica y de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros en Telecomunicación, todos ellos, parte de la Universidad Politécnica de Madrid; por darme la mano cuando lo necesité.

Por último:

“NO HAY NADA MÁS SATISFACTORIO PARA UN INVESTIGADOR QUE VER APLICADAS SUS IDEAS Y CONOCIMIENTOS, Y CUANDO ÉSTOS MEJORAN LA CALIDAD DE VIDA DE LAS PERSONAS, SOLO RESTA AGRADECER POR DEJARNOS SER PARTE DE LAS SOLUCIONES POSIBLES”

Rubén García

Además,

“LA MAYORÍA DE LAS IDEAS FUNDAMENTALES DE LA CIENCIA SON ESCENCIALMENTE SENCILLAS Y, POR REGLA GENERAL PUEDEN SER EXPRESADAS EN UN LENGUAJE COMPENSIBLE PARA TODOS”

Albert Einstein

Índice

1. Introducción General	1
1.1 Marco de Referencia	1
1.2 Nanociencia y Nanotecnología	3
1.3 Planteamiento del Problema	8
1.4 Hipótesis	12
1.5 Objetivos	15
1.5.1 Objetivo General.....	15
1.5.2 Objetivos Específicos.....	15
1.6 Metodología de Investigación	16
1.7 Infraestructura empleada.....	17
1.8 Organización de la Tesis	18
2. Estado del Arte	19
2.1 General	19
2.2 Guiado y focalización con CMEs	21
2.2.1 Fenómenos Físicos.....	21
2.2.2 Magnetoforesis.....	22
2.2.3 Casos Experimentales.....	22
2.3 Actualidad del guiado y la focalización de PMs	24
2.4 Libros de Reciente Publicación.....	25
2.5 Revisión de Patentes	26
3. Conceptos.....	34
3.1 Materiales Magnéticos.....	34
3.1.1 Momento Magnético.....	35
3.1.2 Intensidad de Campo Magnético.....	36
3.1.3 Magnetización	37
3.1.4 Inducción Magnética.....	38
3.1.5 Susceptibilidad y Permeabilidad Magnética.....	38
3.1.6 Clasificación de los Materiales Magnéticos.....	39
3.2 Imanes Permanentes	41
3.2.1 Relación entre H y B.....	43
3.2.2 Histéresis en los Materiales Magnéticos	44
3.2.3 Permeabilidad en los Imanes Permanentes	48
3.2.4 Evaluación de las propiedades en Imanes Permanentes.....	50
3.2.5 Comportamiento de frontera de los Imanes Permanentes.....	52
3.3 Reología	55
3.3.1 Generalidades de los Fluidos.....	56
3.3.2 Flujos Newtonianos.....	58
3.3.3 Flujos No-Newtonianos.....	59
3.3.4 Dependencias de la Viscosidad.....	60
4. Modelo Matemático.....	62
4.1 Fuerzas actuando sobre las PMs	62
2.2 Análisis de fuerzas sobre las PMs	65
4.3 Modelo de sistemas con imanes permanentes.....	67

5. Resultados de la caracterización dinámica de partículas magnéticas.....	71
5.1 Consideraciones importantes	71
5.1.1 Materiales y método seguido para la simulación	72
5.1.2 Materiales y método seguido en la experimentación <i>in vitro</i>	73
5.2 Análisis de dependencias magnéticas	78
5.2.1 Dependencia de la fuerza con la inducción magnética.....	79
5.2.2 Dependencia de la fuerza con la susceptibilidad magnética	81
5.2.3 Dependencia de la fuerza con el volumen de material.....	82
5.3 Velocidad experimentada por las PMs.....	84
5.3.1 Dependencias de la velocidad experimentada por las PMs	84
5.4 Caracterización del movimiento de las PMs In vitro y sus fenómenos no convencionales	88
5.5 Fantoma de sangre humana	95
6. Aplicación Biomédica	100
6.1 Marco de Referencia	100
6.2 Anatomía del Ojo Humano	101
6.2.1 Esclerótica.....	105
6.2.2 Coroides o Úvea.....	105
6.2.3 Retina.....	106
6.3 Descripción del Problema	108
6.3.1 Fuerzas implicadas en el DR.....	110
6.3.2 Respuesta Fisiológica.....	110
6.4 Modalidad terapéutica propuesta para corregir el DR.....	112
6.5 Procedimiento quirúrgico actual para la corrección del DR.....	115
6.6 Soluciones actuales como taponadores del DR	116
6.6.1 Gases.....	116
6.6.2 Siliconas	116
6.7 Proyecto NanoRetina	117
6.7.1 Antecedentes.....	117
6.7.2 Validación in vitro del proyecto.....	118
6.7.2.1 Elección del Ferrofluido y sus materiales	118
6.7.2.2 Experimentación in vitro	120
6.7.3 Modelo Animal.....	126
6.7.4 Biocompatibilidad de materiales.....	129
6.7.5 Diseño y Fabricación del Sistema Ocular	151
6.7.5.1 Partículas Magnéticas	151
6.7.5.2 Explante Magnético	161
6.7.6 Evaluación funcional del Sistema Ocular.....	172
6.7.6.1 Evaluación In Vitro	172
6.7.6.2 Evaluación In Vivo.....	189
6.7.7 Caracterización de la presión ejercida por las PMs.....	207
6.7.7.1 Esquema y montaje de experimentación	211
6.7.7.2 Protocolo de experimentación	218
6.7.7.3 Resultados experimentales	219
7. Conclusiones y Trabajo Futuro	235

7.1 Conclusiones Generales	235
7.1 Conclusiones de Guiado y Focalización de PMs	237
7.1.1 Sobre Guiado de PMs.....	239
7.1.2 Sobre focalización de PMs	243
7.2 Conclusiones de la Aplicación Biomédica.....	245
7.2.1 Sobre el dispositivo ocular.....	245
7.2.2 Sobre la biocompatibilidad del dispositivo ocular.....	247
7.2.3 Sobre la funcionalidad del dispositivo ocular in vitro.....	251
7.2.4 Sobre la funcionalidad del dispositivo ocular in vivo.....	254
7.2.5 Sobre la presión ejercida por el dispositivo ocular.....	260
7.3 Conclusiones Finales	264
7.4 Trabajo Futuro	265
7.4.1 Recinto experimental.....	266
7.4.2 Modelo matemático	266
7.4.3 Fantoma de Sangre	266
7.4.4 Dispositivo ocular.....	267
Referencias	272

Índice de Figuras

Figura 1. Experiencia manifestada en temas de nanotecnología por parte de Centros de Investigación, Educativo e Industria [Turismo y Comercio, 2008].....	6
Figura 2. Ejemplificación de sectores que se pueden ver afectados por las Nanotecnologías [Correia and Serena, 2008].	7
Figura 3. Ejemplo de utilización del guiado y la focalización de PMs. En a) se observa el acercamiento de las NPMs hacia el conjunto de células, malignas y benignas, y en b) las PMs ya han sido focalizadas en las células malignas.	10
Figura 4. Representación de la posible aplicación del guiado y focalización de PMs para el diagnóstico de la EA. En a) las NPMs en el torrente sanguíneo, y en b) las PMs guiadas a través de la barrera hematoencefálica.	11
Figura 5. Metodología sugerida para la consecución de los objetivos planteados.	17
Figura 6. Campo Magnético resultante del flujo de corriente en el anillo [Stöhr and Siegman, 2006].	37
Figura 7. Comparación entre las inducciones magnéticas normal e intrínseca obtenidas a la influencia de un campo magnético. La línea continua es la primera y la punteada es la segunda [Parker and Studders, 1962].	45
Figura 8. Respuesta del material a la aplicación de campo magnético en inversa, es decir, del valor de saturación a cero. Se identifica el punto de intersección con el eje de la inducción (B_r) conocido como inducción magnética residual [Parker and Studders, 1962].	46
Figura 9. Visualización del comportamiento del ciclo de histéresis en el segundo cuadrante, donde se destacan los cruces de las gráficas de las inducciones magnéticas normal e intrínseca con el eje de la intensidad de campo magnético [Parker and Studders, 1962].	47
Figura 10. Ciclo de histéresis completo de un material [Parker and Studders, 1962]... ..	48
Figura 11. Permeabilidades en materiales para imanes permanentes: 1) inicial μ_i , 2) máxima diferencia $\mu_{d(max)}$, y 3) retroceso μ_r [Parker and Studders, 1962].	49
Figura 12. Obtención del valor máximo energético [Parker and Studders, 1962].	51
Figura 13. Ejemplo de utilización de hojas de contorno energético. El producto energético BH_{max} será la intersección entre las curvas de contorno y la curva de desmagnetización [Parker and Studders, 1962].	52
Figura 14. Límite ideal de la curva de desmagnetización, donde $H_c = B_r$ y el rectángulo inscrito bajo la línea que une ambos puntos se refiere al límite superior de la energía de magnetización de un imán permanente [Parker and Studders, 1962].	54
Figura 15. Evolución de los materiales usados para la fabricación de imanes permanentes con respecto a su producto energético BH [Dexter, 2012].	67
Figura 16. Se muestran las características geométricas a considerar para encontrar la inducción magnética proveniente del imán de longitud L_m en un punto P a una distancia d de la cara polar de radio r	70
Figura 17. Escenario propuesto para simulaciones y montaje de experimentos <i>in vitro</i>	72
Figura 18. Recinto de experimentación para la caracterización dinámica de partículas magnéticas, en a) el diseño hecho y en b) una fotografía de cómo quedó al ser construido.	74
Figura 19. Zonas de experimentación en el recinto de metacrilato. En a) la zona de control y en b) la zona activa; ambas con su sistema de monitoreo.	75
Figura 20. Modo de acoplamiento entre el Cono de Fierro y el Imán de NdFeB.	76

Figura 21. Variación de la inducción magnética proveniente de la fuente a lo largo de 100 mm desde la cara polar considerando diferentes magnitudes de energía magnética.	80
Figura 22. Variación de la fuerza experimentada por las PMs por la inducción magnética proveniente de la fuente a lo largo de 100 mm desde la cara polar considerando diferentes magnitudes de energía magnética.	81
Figura 23. Variación de la fuerza con respecto a la variación de la susceptibilidad magnética del material cada 10 mm desde la cara polar de la fuente magnética.	82
Figura 24. Variación de la fuerza con respecto a la variación del volumen de material magnético cada 10 mm desde la cara polar de la fuente magnética.	83
Figura 25. Variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto al cambio de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando 10 valores diferentes de la viscosidad del medio en el cual están inmersas.	85
Figura 26. Variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto al cambio de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando un rango entre 50 nm y 1.050 μm de radio.	86
Figura 27. Variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto al cambio de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando un rango entre 1 y 10 μm de radio.	86
Figura 28. Capturas del movimiento de PMs en respuesta a un CME focalizado tanto en a) como en b). De izquierda a derecha las imágenes en cada inciso corresponde a: el video original, la eliminación de redundancia y la aplicación de filtros de contraste. ...	88
Figura 29. Muestras de control para cada una de las PMs seleccionadas en el estudio: en a) 8 μm , b) 1.31 μm , y c) 50 nm.	90
Figura 30. Comparación de la segunda repetición hecha para PMs de 8 μm con un CME en a) sin focalizar, y en b) focalizado.	90
Figura 31. Comparación de la segunda repetición hecha para PMs de 1.31 μm con un CME en a) sin focalizar, y en b) focalizado.	91
Figura 32. Comparación de la segunda repetición hecha para PMs de 50 nm con un CME en a) sin focalizar, y en b) focalizado.	91
Figura 33. Comparativa entre el comportamiento de las PMs con un CME sin focalizar en: a) 8 μm , b) 1.31 μm y c) 50 nm; y focalizado en: d) 8 μm , e) 1.31 μm y f) 50 nm; para mostrar el fenómeno de auto-organización.	93
Figura 34. Experimento realizado utilizando la pipeta eLINE 300 siguiendo la misma metodología propuesta, con PMs de 8 μm y un CME focalizado.	95
Figura 35. Comparativa de una imagen de sangre humana real y el fantoma de sangre humana: en a) la sangre real y en b) el fantoma de sangre humana.	98
Figura 36. Anatomía del ojo humano. En a) una vista superior de la órbita derecha con globo ocular y músculos extraoculares, en b) una vista lateral del corte sagital de la órbita y el globo ocular derechos, y en c) una vista anterior de los músculos extrínsecos del ojo [Yokochi et al., 1991].	102
Figura 37. Estructuras que componen el ojo humano. Vista Transversal [Pocock and Richards, 2005]	104
Figura 38. Capas tisulares en la parte posterior del ojo incluido el vítreo cortical. Del lado derecho se presentan los nombres de las capas y a la izquierda la resistencia al flujo de cada una [Stephen J. Ryan, 2009].	104
Figura 39. Organización celular de la retina y las capas que la componen [Pocock and Richards, 2005].	106

Figura 40. Vista de corte transversal sobre el ojo humano. Se muestra la sección correspondiente a la Pars Plana, sección donde la retina, coroides y esclerótica tienen sus grosores más pequeños.....	113
Figura 41. Pasos seguidos por los médicos oftalmólogos para la vitrectomía vía pars plana [Stephen J. Ryan, 2009].....	114
Figura 42. Instantánea sacada de una vitrectomía practicada sobre un ojo de conejo albino por médicos oftalmólogos del Hospital Universitario Ramón y Cajal.	115
Figura 43. Partículas magnéticas seleccionadas para la etapa de validación de proyecto NanoRetina. En a) la casa comercial, en b) el tipo de recubrimiento que lleva la partícula, c) y d) fotografías tomadas con microscopio electrónico [Chemicell, 2011].	119
Figura 44. Ciclo de histéresis obtenido en el AGFM para las partículas magnéticas con núcleo de maghemita y recubrimiento de sílice de la marca Chemicell.....	120
Figura 45. Secuencia de imágenes de la muestra de control para la validación de manipulación de partículas magnéticas. En a) la caja de Petri con el líquido de viscosidad controlada, en b) la inserción de la pipeta de precisión con el ferrofluido, en c) la inserción del ferrofluido, y en d) el ferrofluido colocado en la caja de Petri después de 30 minutos.	122
Figura 46. Secuencia de imágenes de la segunda parte del experimento para la validación de manipulación de partículas magnéticas con un CME. En a) la inserción de las PMs en el fondo de la caja de Petri, en b) las PMs en el fondo de la caja de Petri, en c) el acercamiento del imán, en d) la interacción experimentada por las PMs, en e) el levantamiento de la caja de Petri debido a la interacción de las PMs con la fuerza magnética, y en f) las PMs depositándose una vez retirado el CME.	123
Figura 47. Secuencia de imágenes de la tercera parte del experimento para la validación de manipulación de partículas magnéticas empleando un CME focalizado.	125
Figura 48. Relación de la cantidad de especímenes utilizados en cada referencia considerada para los ensayos pertinentes.....	128
Figura 49. Preparación del ensayo de toxicidad con animales. En a) las jeringas con 50 µl de ferrofluido, y en b) el conejo anestesiado.....	132
Figura 50. Secuencia de imágenes que muestran la inserción del ferrofluido en la cámara anterior del ojo del conejo. En a) la preparación del conejo para ser inyectado, en b) el acercamiento de la aguja que contiene el ferrofluido, en c) la inserción de la aguja hacia la cámara anterior del ojo, y en d) la extracción de la aguja después de liberar las PMs.	132
Figura 51. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos del grupo 1S: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.....	135
Figura 52. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos del grupo 1M: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.....	136
Figura 53. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos del grupo 2M: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.....	136
Figura 54. Evolución del valor medio de la PIO y la desviación estándar para los conejos del grupo 1S en a) los ojos derechos, y en b) los ojos izquierdos.....	137
Figura 55. Evolución del valor medio de la PIO y la desviación estándar para los conejos del grupo 1M en a) los ojos derechos, y en b) los ojos izquierdos.	137
Figura 56. Evolución del valor medio de la PIO y la desviación estándar para los conejos del grupo 2M en a) los ojos derechos, y en b) los ojos izquierdos.	138
Figura 57. Tendencia evolutiva del valor medio de las PIOs de los ojos derechos en los conejos de los grupos 1S, 1M y 2M.	139

Figura 58. Tendencia evolutiva del valor medio de las PIOs de los ojos izquierdos en los conejos de los grupos 1S, 1M y 2M.	140
Figura 59. Gráfica de comparación entre las medianas de la PIO en los ojos derechos de los conejos neozelandeses en los grupos 1S, 1M y 2M.	141
Figura 60. Gráfica de comparación entre las medianas de la PIO en los ojos izquierdos de los conejos neozelandeses en los grupos 1S, 1M y 2M.	142
Figura 61. Imágenes tomadas con microscopio de, a) el ferrofluido visto por encima del ojo, y b) un acercamiento del ferrofluido acomodado dentro del globo ocular.	143
Figura 62. Secuencia de imágenes en la que se observa el procedimiento seguido para la toma de muestra de retina, en a) la incisión para separar la córnea, en b) los cortes realizados para extraer la córnea, en c) cortes realizados en el cuerpo ciliar para tener acceso a la cavidad vítrea, en d) el ojo exprimido para sacar el cristalino y cuerpo vítreo, en e) la extracción del cristalino a cielo abierto, y en f) la toma de la muestra de retina.	144
Figura 63. Acercamiento al ojo del conejo utilizado para la toma de muestra de retina, en la cual se observa el ferrofluido encapsulado en una membrana.	145
Figura 64. Resultados anatomopatológicos de las muestras de retina tomadas de los conejos 8 y 9 del grupo 1S. Los incisos a) y b) corresponden a la muestra del conejo 8, ojo derecho e izquierdo, respectivamente; y c) y d) a la muestra del conejo 9, ojo derecho e izquierdo, respectivamente.	146
Figura 65. Deposición del ferrofluido a través de esclerótica, coroides y retina, debido a la inyección.	147
Figura 66. Partícula magnética propuesta para la corrección del desprendimiento de retina.	152
Figura 67. Fotografía al microscopio de los copos magnéticos obtenidos para la re-aplicación de la retina en la Universidad Autónoma de Madrid [cedida por el Dr. Álvaro Muñoz Noval].	153
Figura 68. Ciclo de histéresis de la primera tanda de copos caracterizada con el AGFM. En a) la respuesta magnética sin suavizado, y en b) la respuesta magnética con suavizado AAV.	155
Figura 69. Ciclo de Histéresis de la segunda tanda de copos. En a) la respuesta magnética sin suavizado, y en b) la respuesta magnética después de aplicar suavizado AAV.	157
Figura 70. Ciclo de histéresis de los copos pertenecientes a la tanda tres.	158
Figura 71. Ciclo de histéresis de la cuarta tanda de copos.	158
Figura 72. Comparativa de los ciclos de histéresis de las cuatro tandas de copos fabricadas.	159
Figura 73. Evolución de los valores máximos de magnetización alcanzados por cada una de las cuatro tandas de copos fabricadas y su ajuste de comportamiento funcional.	160
Figura 74. Gráfica comparativa de las cuatro tandas de copos fabricadas con las partículas magnéticas comerciales de Chemicell.	161
Figura 75. Variación de la inducción magnética simulada con respecto a un punto en el espacio alejándose de la cara superior del explante.	163
Figura 76. Acercamiento hecho a la gráfica de la figura 75 para mostrar la evolución de la inducción magnética entre 9,5 y 10,5 mm.	164
Figura 77. Simulación 3D del imán seleccionado para el prototipo del explante. En a) el imán contenido en una región de aire, en b) se muestran las propiedades del imán; y en c) las propiedades de la región.	166
Figura 78. Simulación 3D de la magnitud de la inducción magnética en el imán.	167

Figura 79. Valor de la magnitud de la inducción magnética para el imán de 6 mm de diámetro con Matlab.	167
Figura 80. Líneas de campo magnético en la región de simulación completa para un imán de NdFeB con un diámetro de 6 mm y una altura de 1 mm.	169
Figura 81. Acercamiento a la cara superior del imán simulado en Maxwell 3D con un diámetro de 6 mm y una altura de 1 mm, para la observación de la distribución de las líneas de campo.	169
Figura 82. Imán de NdFeB elegido para el prototipo del explante magnético, con diámetro de 6 mm y altura de 1 mm.	170
Figura 83. Conjunto de elementos necesarios para obtener el epoxi y utilizarlo como recubrimiento.	170
Figura 84. Arreglo de imanes empleado en la experimentación in vitro en cualquiera de los supuestos.	174
Figura 85. Inserción del ferrofluido en el interior del fantoma de ojo para la observación de la interacción magnética, respetando la distancia aproximada a la que los médicos lo hacen en la cirugía, 10 mm.	175
Figura 86. Secuencia de imágenes de la inserción del ferrofluido de imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) la colocación de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, en b) la deposición en el primer imán de ferrofluido, en c) la atracción del ferrofluido hacia el segundo imán, y en d) ferrofluido en cuatro de los imanes.	176
Figura 87. Vista de la deposición del ferrofluido en el fondo del fantoma de ojo.	177
Figura 88. Secuencia de imágenes de la inserción del ferrofluido con imanes magnetizados sobre su diámetro. En a) la introducción de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, b), c) y d) son tres imágenes consecutivas de cómo es atraído el ferrofluido a la superficie del imán, y e) y f) muestran la distribución tomada en los cinco imanes del ferrofluido.	178
Figura 89. Comparación de la interacción magnética de ferrofluido con partículas esféricas, en a) imanes con magnetización sobre el eje Z, y en b) imanes con magnetización diametrical.	179
Figura 90. Imágenes de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo en imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) el día de la inserción del ferrofluido, en b) 3 días después, y en c) 18 días posteriores.	180
Figura 91. Acercamiento de la figura 71 de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo en imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) el día de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, y c) 18 días posteriores.	181
Figura 92. Acercamiento del inciso c) de la figura 66 de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo en imanes con magnetización sobre el eje Z.	181
Figura 93. Imágenes de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo usando imanes con magnetización diametrical. En a) el momento de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, c) 7 días de diferencia, d) 10 días, y e) 25 días posteriores.	182
Figura 94. Acercamiento de las imágenes de la figura 68 de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo usando imanes con magnetización diametrical. En a) el momento de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, c) 7 días de diferencia, d) 10 días, y e) 25 días posteriores.	182
Figura 95. Secuencia de imágenes de la retirada de imanes con magnetización sobre el eje Z del fantoma de ojo después de 28 días. En a) el inicio de la separación de los imanes, en b) la aglomeración de todas las partículas magnéticas sobre el último de los imanes, en c), d), e), y f) la caída del ferrofluido al fondo del fantoma de ojo una vez que ya no experimenta ningún campo magnético.	184

Figura 96. Imágenes de la retirada de imanes con magnetización diametrical del fantoma de ojo después de 28 días. En a), b), c), d) y e) se muestran la separación del primero, segundo, tercero, cuarto y quinto imanes de derecha a izquierda de cada imagen, respectivamente, de la superficie del fantoma de ojo, y en f) la precipitación y deposición final de las partículas magnéticas.	185
Figura 97. Evolución del ferrofluido después de haber retirado los imanes con magnetización diametrical en a) 1 semana, y b) 3 semanas.....	186
Figura 98. Secuencia de imágenes de la inserción de los copos magnéticos de imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) la colocación de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, en b) la deposición en el primer y segundo imanes de ferrofluido, en c) la precipitación de ferrofluido al fondo del fantoma de hoja, y en d) una vista de la atracción del ferrofluido hacia el primer imán.	188
Figura 99. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos de la fase 1: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.....	193
Figura 100. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos de la fase 2: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.....	193
Figura 101. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos de la fase 2: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.....	193
Figura 102. Gráfica de comparación entre las medianas del ojo de control y el experimental de los 10 conejos neozelandeses de la fase 1.	194
Figura 103. Gráfica de comparación entre las medianas del ojo de control y el experimental de los 10 conejos neozelandeses de la fase 2.	195
Figura 104. Gráfica de comparación entre las medianas del ojo de control y el experimental de los 10 conejos neozelandeses de la fase 3.	195
Figura 105. Estudio de tinción nuclear con Hoechst: en a) un corte con tinción de control y en b) el corte con la misma tinción conteniendo ferrofluido.	197
Figura 106. Prueba de TUNEL realizada en los conejos seleccionados: en a) un corte con el control, y en b) el corte conteniendo ferrofluido.....	198
Figura 107. Prueba con tinción de Masson: en a) el corte de control, y en b) el corte que contiene ferrofluido.	199
Figura 108. Imagen histopatológica de los conejos para la evaluación biomecánica del dispositivo ocular. En a) el ojo de control, y en b) el ojo izquierdo en la zona de interacción magnética.	200
Figura 109. Indicadores seleccionados para la evaluación funcional del dispositivo ocular magnético. Las barras corresponden al valor porcentual de cada uno de ellos sobre los 30 conejos usados en las tres fases de experimentación.	202
Figura 110. Comparativa entre la colocación esperada de las partículas magnéticas utilizadas en el estudio: en a) partículas comerciales y en b) los copos magnéticos. .	211
Figura 111. Esquema propuesto para la obtención de la presión ejercida por partículas magnéticas cuando se aplica un CME.	211
Figura 112. Vista superior del sensor utilizado para medir la presión experimentada por las PMs a un CME.	212
Figura 113. Montaje hecho para la experimentación: en a) una vista a 45°, y en b) una vista lateral.....	213
Figura 114. Montaje finalmente utilizado para la experimentación: en a) una vista a 45°, en b) una vista lateral y en c) una vista superior.	214
Figura 115. Manómetro casero fabricado en el ICMAB para la calibración del sensor de presión. Se muestra: en a) la vista de la parte superior del manómetro, en b) la parte inferior del mismo, y en c) una vista de la zona donde se coloca el sensor de presión para su calibración.	216

Figura 116. Gráfica de equivalencia entre presiones en mmH ₂ O e incrementos de resistencia.	217
Figura 117. Gráfica de calibración analizada para encontrar la equivalencia entre mmH ₂ O y mmHg con respecto al cambio de resistencia del sensor.....	218
Figura 118. Respuestas en líquido y sólido de las PMs comerciales en respuesta a un CME aplicado.	220
Figura 119. Gráfica de la respuesta del sensor a la influencia de un CME sobre PMs comerciales a 0.055 mm.....	222
Figura 120. Comparación de la presión ejercida por PMs comerciales a dos distancias: en negro 0.055 mm y en rojo 2.5 mm.	223
Figura 121. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 10 µl y la distancia mínima posible en el arreglo.	224
Figura 122. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 10 µl y la distancia que corresponde a la existente entre esclerótica y retina.	225
Figura 123. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 20 µl y la distancia mínima posible en el arreglo.	226
Figura 124. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 20 µl y la distancia que corresponde a la existente entre esclerótica y retina.	226
Figura 125. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 20 µl y una distancia cercana a los 10 mm que es donde los médicos liberan las partículas.	227
Figura 126. Gráfica de la respuesta en presión experimentada por 20 µl de copos a una distancia de 0.078 mm. En la sección izquierda la respuesta a la aplicación de una fuente magnética, y en la sección derecha la respuesta de las mismas partículas sin fuente magnética.	228
Figura 127. Gráfica de la respuesta en presión experimentada por 20 µl de copos a una distancia de 2.59 mm. En la sección izquierda la respuesta a la aplicación de una fuente magnética, y en la sección derecha la respuesta de las mismas partículas sin fuente magnética.	229
Figura 128. Comparación entre la evolución de la presión ejercida por las partículas esféricas y planares a diferentes separaciones entre la fuente magnética y el sensor.	230
Figura 129. Evolución experimentada por las PMs en función de la distancia de separación entre la fuente magnética y el sensor: en a) las partículas comerciales, y en b) las partículas tipo copo. Además se muestra el ajuste de la gráfica a una ecuación exponencial decreciente.	231
Figura 130. Fotografías que ilustran: en a) la cara donde está colocado el explante ocular magnético, en b) la cara donde se encuentra el ferrofluido de partículas tipo copo a observar, y en c) la colocación de la muestra en el microscopio.	232
Figura 131. Fotografías hechas al microscopio que muestran: en a) la aglomeración completa de partículas encima de la retina, en b) un acercamiento de la misma aglomeración pero en contraste blanco/negro, y en c) se ven las partículas apiladas y se identifican los contornos de éstas.	233

Índice de Tablas

Tabla I. Clasificación de los materiales de acuerdo al fenómeno que produce su comportamiento magnético y sus principales características magnéticas que los definen [Stöhr and Siegman, 2006].	39
Tabla II. Subdivisión de los materiales con magnetismo colectivo y sus características principales [Stöhr and Siegman, 2006].	40
Tabla III. Ejemplo de industrias que hacen uso de la Reología para sus productos [Hill and Chabanis, 2011].	55
Tabla IV. Tipos de fluidos No-Newtoniano independientes del tiempo, sus características y ejemplos [Quantotec, 2008].	59
Tabla V. Tipos de fluidos No-Newtoniano dependientes del tiempo, sus características y ejemplos [Quantotec, 2008].	59
Tabla VI. Características principales del imán de NdFeB utilizado en la experimentación in vitro.	75
Tabla VII. Características principales de las PMs empleadas en la experimentación.	76
Tabla VIII. Velocidad del pistón de la pipeta eLINE 300 y su correspondiente número de configuración.	95
Tabla IX. Combinaciones posibles de tipos de sangre humana que pueden ser concebidas con el proceso de fabricación del fantoma de sangre.	99
Tabla X. Numeración correspondiente a la Figura 16 y el nombre de la parte del ojo humano al que hacen referencia [Yokochi et al., 1991].	102
Tabla XI. Características representativas de las partículas magnéticas Chemicell [Chemicell, 2011].	119
Tabla XII. Número de especímenes empleados en cada estudio de las referencias consideradas, así como el tipo de modelo animal empleado.	127
Tabla XIII. Normativa vigente en España para la experimentación con animales en hospitales.	129
Tabla XIV. Nivel de taurina encontrado en la retina de los conejos seleccionados en cada uno de los tres grupos 1S, 1M y 2M.	149
Tabla XV. Parámetros que pueden ser medidos utilizando el AGFM [García et al., 2010b].	154
Tabla XVI. Relación entre el diámetro del imán y la inducción magnética experimentada a 10 mm de la cara superior del imán.	164
Tabla XVII. Diferencia entre los valores de inducción magnética de manera decreciente entre los diferentes diámetros considerados para el estudio y el valor medio de dicha diferencia en inducción magnética.	165
Tabla XVIII. Indicadores evaluados para su posterior utilización en análisis médico y funcional.	200
Tabla XIX. Valores aproximados calculados para los dos tipos de morfologías usadas en el estudio y considerando el cambio en la separación entre sensor y fuente magnética.	230
Tabla XX. Datos correspondientes a la presión ejercida por las partículas planares sobre la cara activa de la fuente magnética en dos volúmenes: 10 y 20 μ l, así como dos separaciones: mínima y 2.5 mm.	233

CAPÍTULO 1

1. Introducción General

1.1 Marco de Referencia

Las necesidades cada vez mayores de una población en crecimiento constante han desembocado en un vertiginoso avance tanto de las tecnologías como de la investigación. Con la finalidad de cubrir dichas necesidades, las vertientes tomadas han sido tan diversas como los campos de investigación; entre los que encontramos biología, química, medicina, ciencias de los materiales, ingenierías, etc.; pero es inevitable que todas ellas deberán converger para cumplir el objetivo principal que es mejorar los servicios sanitarios prestados a una sociedad cada vez más exigentes.

Hoy en día los gobiernos, tanto en los países de primer mundo como en los que están en vías de desarrollo, ven como una prioridad la reestructuración de los sistemas sanitarios no solo a niveles administrativos sino también en servicios a la población, que sean capaces de ofrecer soluciones más eficientes a menor costo. Esto permitirá a mediano y largo plazo hacer más eficientes los

sistemas de salud y aprovechar los recursos asignados de mejor manera para conservar la calidad, cobertura y equidad de los servicios prestados.

Partiendo de los hechos presentados, El Gobierno de España, intentando alcanzar el equilibrio económico-social y la cobertura deseada de sus habitantes; ha reestructurado algunas de sus iniciativas para activar la economía de manera uniforme entre los diferentes sectores de acción. Una de sus apuestas es la de inversión y activación del sector de la investigación, desarrollo e innovación (I+D+i); el cual puede generar productos y servicios que, adecuadamente encaminados, se transformen en empresas competitivas, nacionales e internacionales. Siguiendo este criterio surge el Centro de Investigación Biomédica en Red – Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (Ciber-bbn); una iniciativa por parte del Ministerio de Ciencia e Innovación para coordinar los esfuerzos y logros alcanzados de diversos grupos de investigación, nacionales e internacionales. Dicha iniciativa ha permitido general conocimiento y desarrollo de tecnologías vanguardistas tras la organización de diversas reuniones informativas y participativas, permitiendo un acercamiento entre grupos de investigación y éstos mismos con empresas líderes en las diferentes áreas de interés.

De manera similar, la Universidad Politécnica de Madrid (UPM), importante centro educativo a nivel nacional e internacional de España, ha apostado por la creación de un Centro de Tecnología Biomédica (CTB) que sea capaz de conjuntar los esfuerzos de diversas ramas de la investigación para

aportar soluciones conjuntas a enfermedades degenerativas¹ como el Alzheimer, mal de Parkinson, esclerosis múltiple, degeneración cognitiva leve o cáncer. Además de lo anterior, pretende aportar las soluciones más viables en otros campos médicos; particularmente hablando de este proyecto se ha identificado que puede haber un gran aporte científico y tecnológico en la Oftalmología, y por mencionar algunas otras áreas de interés están: imágenes médicas para ayuda al diagnóstico, sistemas de telemedicina, neuropatologías, entrenamiento quirúrgico, sistemas corticales, estudios de la influencia de los campos electromagnéticos en los humanos, etc.

En este marco de referencia es donde se anida el trasfondo de este proyecto de tesis doctoral, el cual aporta los conocimientos y equipos primarios para la caracterización dinámica de micro y nanopartículas magnéticas, y que forma parte de un proyecto más ambicioso para la creación de una Plataforma de Caracterización de Nanotecnologías. Dicha plataforma permitirá a corto, mediano y largo plazo el surgimiento de servicios y productos que pueden ser ofrecidos a empresas, clínicas y hospitales, aportando de esta manera el correspondiente grano de arena para la activación económica y la mejora continua de los servicios de salud.

1.2 Nanociencia y Nanotecnología

El hecho de poner el prefijo NANO a ambas palabras: ciencia y tecnología, implica que éstas se englobarán en un rango específico de medida que abarca

¹Enfermedades Degenerativas: se caracterizan por la provocación de alteraciones anatómicas y funcionales de órganos, aparatos o sistemas del cuerpo humano conforme transcurre el tiempo.

desde 1×10^{-9} hasta 999×10^{-9} m. Particularmente, la primera hace referencia al estudio de átomos, moléculas y objetos en el rango mencionado, y se diferencia de las otras ciencias porque las propiedades a esas escalas adquieren importancia. La segunda es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control, explotación de fenómenos y propiedades de la materia en el mismo rango².

Ambas disciplinas no sólo forman parte de una estructura de investigación compleja, actualmente ya se están viendo los primeros resultados en aplicaciones comerciales en sectores como: electrónica, materiales, automoción, cosmética, etc. Al mismo tiempo, despierta un interés mediático debido a la naturaleza del ser humano por controlar la forma y composición de la materia a escala atómica y molecular, abarcando un abanico inmenso de técnicas y metodologías. La fascinación por controlar las escalas nanométricas es la que ha permitido acceder a nuevas propiedades y fenómenos que sólo se manifiestan manipulando la materia en escalas minúsculas, permitiendo que científicos y tecnólogos puedan crear materiales, dispositivos y sistemas con un alto nivel de innovación.

Todos estos hechos han sido consecuencia de la convergencia de varios factores como: el avance de la ciencia y la tecnología hacia un mejor entendimiento y control de las propiedades de la materia, la búsqueda de nuevos retos científico-tecnológicos que permitan una evolución constante de las tecnologías existente y aquellas que las suplirán, la importancia que tiene

² <http://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/diccionario/diccionario.htm>

para la industria el factor innovación en sus productos, servicios y sistemas de seguridad ante procesos peligrosos, y por último el ímpetu puesto por las economías poderosas por encontrar un nuevo modelo económico sostenible. Estos factores, entre otros muchos, han incentivado que la nanociencia y la nanotecnología formen parte de nuestro día a día, ofreciéndonos nuevas perspectivas e innovadoras soluciones para lo que hasta el momento se utiliza. Por otro lado, las entidades financieras, ya sean públicas o privadas, ponen sus esperanzas en dichas soluciones dando su respaldo financiero en busca de su desarrollo pleno y exitoso.

Sin embargo, existen aún algunas fronteras que deben ser traspasadas, tal es el caso de la traslación del conocimiento a la industria, ya que de acuerdo con un estudio realizado por el Ministerio de Turismo, Industria y Comercio de España [Turismo y Comercio, 2008], se concluye que el conocimiento y sus posibles aplicaciones potenciales se quedan en un 46,8% dentro de los Centros de Investigación, un 41,3% en los Centros Educativos y una pequeña porción de 11,9% en la Industria (ver figura 1), lo anterior es el reflejo de la ausencia en la estructura educativa y científica para establecer un vínculo directo con la industria y tomar un rumbo unificado hacia las posibles aplicaciones de las nanotecnologías en las diferentes áreas de aplicación.

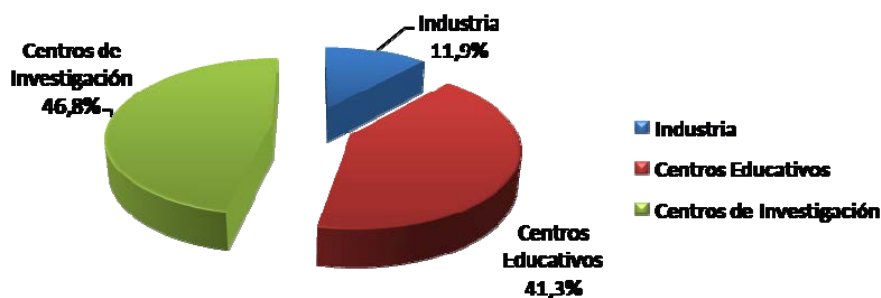


Figura 1. Experiencia manifestada en temas de nanotecnología por parte de Centros de Investigación, Educativo e Industria [Turismo y Comercio, 2008].

Sin embargo, la inminente tendencia de la nanotecnología a ser multidisciplinar y transversal hará que, a mediano y largo plazo, impacte socialmente a través de cualquiera de sus múltiples aplicaciones, las cuales están únicamente restringidas por el carácter innovador que puedan ofrecer las soluciones propuestas a procesos industriales, métodos clínicos, ingeniería de optimización, tecnología de materiales, etc. De manera muy generalizada y desde una posición muy conservadora, los sectores que pueden ser más fácilmente afectados por la irrupción de las nanotecnologías se presentan en la figura 2, en cuyos apartados principales se encuentran: nanobiotecnología y nanomedicina, nanomateriales y nanoelectrónica. En su mayoría está basada en el análisis de la situación presente y futura de la nanociencia y nanotecnología en España realizado por la Fundación Phantoms [Correia and Serena, 2008], y se complementa con las tendencias observadas y la experiencia adquirida en el Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina del Centro de Tecnología Biomédica en vertientes como: hipertermia magnética, hipertermia óptica, agentes de contraste, biosensores y caracterización de propiedades magnéticas, mecánicas, dinámicas y temporales de partículas magnéticas (PMs) [Mina et al.,

2009, Mina et al., 2010, Aznar et al., 2010, García et al., 2009, García et al., 2010a, García et al., 2011, García et al., 2010b, Ferro et al., 2008, Ferro et al., 2009, Ferro et al., 2010a, Ferro et al., 2010b, Macías et al., 2009].

Pero no solo las áreas en la cabecera serán las afectadas por los avances en la nanociencia y nanotecnología, como se puede ver por debajo de ellas está un abanico infinito de posibles áreas que podrían hacer uso de éstas, como: óptica, fotónica, química, metrología, energía, simulación y modelado, etc.

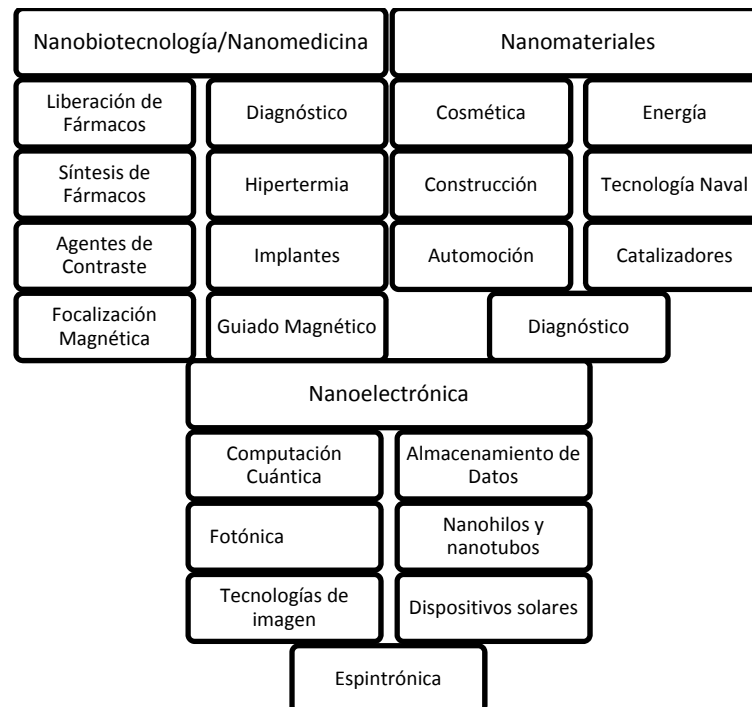


Figura 2. Ejemplificación de sectores que se pueden ver afectados por las Nanotecnologías [Correia and Serena, 2008].

Tanto la nanociencia como la nanotecnología han sido abordadas por infinidad de investigadores en los últimos años, como se revisará en la sección II de este documento, ya que se les ha vislumbrado un futuro prometedor a corto, mediano y largo plazo. Actualmente, se pueden encontrar tantos campos

como los investigadores o tecnólogos propongan, y las aplicaciones provenientes de ellas cada vez son más viables.

Principalmente se han seguido las siguientes vertientes: a) modelar los comportamientos propios de las PMs en los sistemas del cuerpo humano, ya sea a escala micro o nano, b) encontrar componentes biológicos vinculados con enfermedades que puedan ser incorporados a dichas partículas magnéticas, y c) estudio de los materiales con las mejores propiedades magnéticas y aislantes de medios biológicos. Lo anterior con el objetivo de diagnosticar de manera precoz o coadyuvar en el tratamiento de enfermedades como el Alzheimer, Mal de Parkinson, Cáncer y otras patologías. Esto tiene como consecuencia el surgimiento de nuevas tecnologías.

Finalmente, este trabajo se ubica dentro del Nanomagnetismo, *que es la disciplina encargada del estudio de los fenómenos que surgen de la aplicación de campos magnéticos, estáticos o alternos, a partículas magnéticas independientemente del medio en donde se encuentren las mismas.*

1.3 Planteamiento del Problema

La tendencia tras la aparición de la nanotecnología ha sido llegar a lugares recónditos del cuerpo humano dónde algún agente externo pudiera estar causando daño, e.g. células cancerígenas. Esto sólo es posible a través de una cirugía invasiva o empleando agentes quimioterapéuticos, pero de igual forma producen un daño irreversible en muchos de los casos al cuerpo humano y sus sistemas. Además, las limitaciones actuales de los equipos médicos para llegar a dichos lugares son evidentes.

Con el anterior ejemplo, y el cual no es limitante al alcance de la utilización de nanotecnologías, sería entonces deseable tener agentes que pudieran ayudar a las células sanas a defenderse de las malignas y para ese fin, entre otros muchos, han sido potencializadas las PMs como elementos auxiliares para el diagnóstico o tratamiento de enfermedades, degenerativas o no.

Por sus propiedades intrínsecas de fabricación, las PMs responden a la aplicación de un campo magnético externo, alterno o estático, con lo cual es posible establecer hipótesis sobre su utilización para la entrega de fármacos, hipertermia, agentes de contraste y particularmente en este proyecto, manipularlas para moverlas y colocarlas en un lugar específico.

La manera ilustrativa de entender la finalidad más allá de este proyecto de investigación se presenta en la figura 3. En ella se observan dos células de cáncer obstruyendo el desarrollo o buen funcionamiento de la célula sana. Las tres están ubicadas hipotéticamente en una zona de difícil acceso donde sólo es posible llegar haciendo una intervención quirúrgica invasiva. Entonces, contar con una tecnología que permita llevar un agente con un fármaco a la zona de interés sería la mejor opción. Aquí es donde encuentra su aplicabilidad el guiado y la focalización. El primero se utiliza para llevar las PMs al lugar recóndito, como se ve en el inciso a) de la figura 3; y el segundo permite colocarlas dentro de las células cancerígenas para eliminarlas, ya sea por fármaco o por hipertermia, inciso b) de la misma figura. El ejemplo presentado da una idea de los procesos invasivos que se podrían evitar y de la innovación

tecnológica tan importante que ofrecería a la medicina. Sin embargo, aún existen hitos importantes por completar para llegar a tal objetivo.

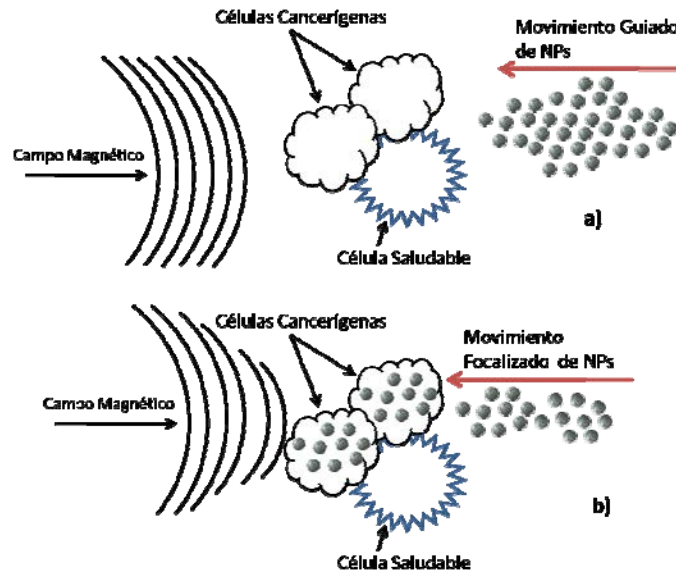


Figura 3. Ejemplo de utilización del guiado y la focalización de PMs. En a) se observa el acercamiento de las NPMs hacia el conjunto de células, malignas y benignas, y en b) las PMs ya han sido focalizadas en las células malignas.

Pero el tratamiento y diagnóstico del cáncer no es la única aplicación potencial, también se ha pensado en la posibilidad de usar ambas técnicas para alcanzar una interacción con la β -Amiloide, que proviene de la ruptura de la Proteína Precursora Amiloidea (PPA), y es un indicativo del inicio de la Enfermedad del Alzheimer (EA) [Association, 2011]. La idea a groso modo sería forzar las PMs para atravesar la barrera hematoencefálica tal y como lo muestra la figura 4, incisos a) y b), donde en el primer inciso se observan las PMs en el torrente sanguíneo y en la segunda se ven ya ingresadas en el cerebro. Una vez incorporadas, al igual que en el ejemplo anterior, cabría la posibilidad de colocar de manera focalizada un fármaco, provocar hipertermia o usarlas como agentes de contraste.

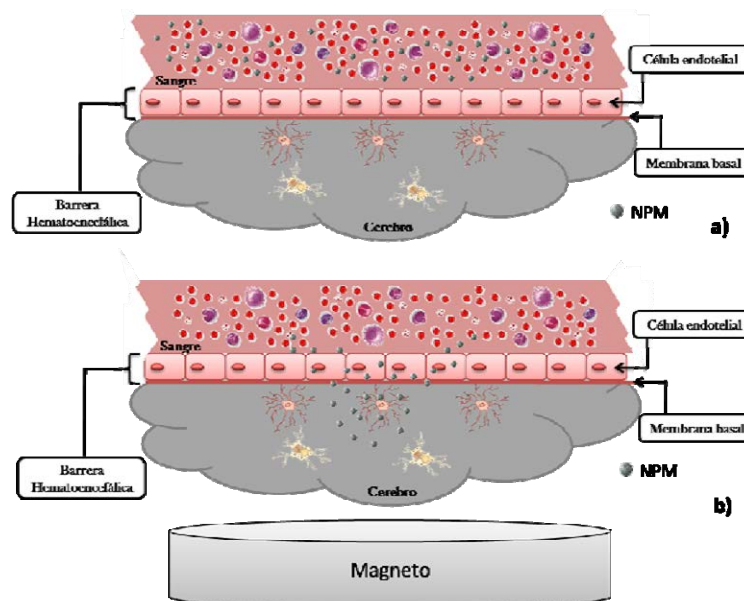


Figura 4. Representación de la posible aplicación del guiado y focalización de PMs para el diagnóstico de la EA. En a) las NPMs en el torrente sanguíneo, y en b) las PMs guiadas a través de la barrera hematoencefálica.

Esta última aplicación tiene una fuerte dependencia a los descubrimientos que se logren sobre los agentes que desencadenan la EA, para ello existen fundaciones con dicho fin como la Fundación Reyna Sofía, en España, o la National Alzheimer's Association en EE.UU.

Con todo lo anterior, la **motivación de este trabajo de investigación** surge de la necesidad de profesionales de la salud, investigadores y tecnólogos por encontrar los fenómenos químicos, físicos, biológicos o visuales que permitan la detección precoz de enfermedades, degenerativas o no, así como la intervención mínimamente invasiva para el diagnóstico o tratamiento de las mismas.

1.4 Hipótesis

El empleo de la nanotecnología como auxiliar en el tratamiento de enfermedades ha venido a más en los últimos diez años. Sin embargo, los trabajos en relación al guiado de partículas no son muchos, y por lo tanto se visualiza un campo abierto para la investigación.

El guiado y la focalización de partículas magnéticas es un tema de investigación que ha tomado auge hasta después del 2005, quizá por la falta de interés en las posibilidades de su utilización médica. Sin embargo, desde el inicio de este trabajo de investigación se ha visualizado el alto impacto que pudiera tener el dominio de la técnica de manipulación de PMs. Aunque en un inicio se habían propuesto varias hipótesis: 1) manipulación con campos magnéticos estáticos (CMEs), 2) utilización de las propiedades de las ondas estacionarias, y 3) empleo de los ultrasonidos; el trabajo presentado en este documento ha sido consecuencia de la primera hipótesis.

El empleo de CMEs para manipular las PMs está íntimamente relacionado con la magnetoforesis, que es una técnica de manejo de gradientes magnéticos, estáticos o dinámicos, a través de la cual es posible observar las respuestas de materiales magnéticos cuando están inmersos en un medio acuoso con una determinada viscosidad. Al aplicar un gradiente de campo magnético a las PMs, dependiendo del material con el que estén fabricadas, éstas se alinean o desalinean con respecto a dicho gradiente y experimentan fuerzas de atracción o repulsión. Por tanto, cabe la hipótesis de que con el

dominio de la técnica de magnetoforesis sería posible moverlas, guiarlas, focalizarlas y caracterizarlas.

Lo anterior puede ser posible utilizando las características magnéticas intrínsecas de los materiales utilizados para la fabricación de imanes permanentes y/o PMs, aprovechando su inducción magnética y su magnetización, respectivamente. Además, teniendo las herramientas adecuadas se pueden hacer diseños de los mismos, con lo cual se controlarían parámetros importantes para la viabilidad del fin buscado.

Este Proyecto Doctoral aborda teórica y experimentalmente el guiado y la focalización de partículas magnéticas. Con la teoría es posible la identificación de los fenómenos implicados al interaccionar las PMs con los campos magnéticos externos aplicados, permitiendo así la identificación de variables críticas de los fenómenos implicados, cuyo control sugiere una aproximación adecuada. Por otro lado, la experimentación permitirá corroborar la teoría y el desarrollo de técnicas de caracterización dinámica de las PMs. Así mismo, existirá la posibilidad de validar procesos específicos de cara a su uso en aplicaciones biomédicas, más particularmente ha tenido una influencia sustancial el dominio de tales técnicas de manipulación para darle solución al problema de taponadores retinianos; que ha sido resuelto en colaboración con el Hospital Universitario Ramón y Cajal y la Universidad Autónoma de Madrid, particularmente con los departamentos de oftalmología y física aplicada, respectivamente.

El proyecto del uso de ferrofluidos como taponadores retinianos, del cual proceden los resultados presentados en el Capítulo 7, es un proyecto de amplia envergadura, que sugiere el involucramiento de diversas disciplinas y actuadores industriales; así como del cumplimiento de hitos consecutivos a lo largo de una línea temporal que pudiese alcanzar los 12 años para su industrialización. Particularmente este trabajo de investigación ha cumplido con los primeros hitos, orientados a la validación de las posibilidades reales de éxito, la conceptualización de la idea, fabricación, caracterización, optimización, prueba in vitro y prueba in vivo con modelo animal. Sin embargo, queda la parte más extensa en lo que a tiempo se refiere, que es una muestra más grande de ensayos con animales con una línea más concreta hacia los resultados esperados, y finalmente los ensayos clínicos que abarcan cuatro fases (I, II, III y IV), y que cambian en la cantidad de personas tratadas con el dispositivo médico a probar. Este proyecto tan global, además de los grupos de investigación involucrados ha necesitado de nuevas estrategias por parte de las instituciones educativas, por lo que ha sido auspiciado por entidades de apoyo a la investigación de España como: El Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (Ciber-bbn), Red de Grupos de Excelencia de la Comunidad de Madrid en Ingeniería Biomédica(MADR-IB), Plataforma de Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas(NANOMAG), y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT). El hecho de tener fuertes instituciones educativas, centros de investigación y centros médicos fomentando el empleo de las PMs para

aplicaciones médicas, y no sólo eso, sino tomando participación activa en los proyectos, permite sustentar la importancia de este trabajo de investigación.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo General

Manipulación de partículas magnéticas, ya sean micro o nano, para guiarlas a través de un trayecto definido; así como su focalización para depositarlas en un lugar específico con el fin de diagnosticar y/o tratar patologías de interés, o como elementos auxiliares de cirugía.

1.5.2 Objetivos Específicos

- 1) Revisión del Estado del Arte al día en el tema para establecer tanto fundamentos teóricos como experimentales.
- 2) Comprobación de los fenómenos presentados en la literatura con el fin de comprobar la hipótesis planteada sobre la manipulación de PMs.
- 3) Verificar la viabilidad de implementar metodologías y dispositivos para el guiado y la focalización de PMs para Aplicaciones Biomédicas.
- 4) Presentado el problema a resolver para el uso de ferrofluidos como taponadores de agujeros retinianos, validar que los fenómenos físicos asociados a las PMs bajo la influencia de un CME pudiesen servir para resolver el problema.

- 5) Diseño y desarrollo de las tecnologías necesarias para ayudar con la cirugía del desprendimiento de retina.
- 6) Hacer evaluaciones in vitro e in vivo para validar procesos y funcionalidades de las tecnologías fabricadas.

1.6 Metodología de Investigación

La metodología general a seguir para conseguir los objetivos planteados se menciona a continuación y se complementa con la figura 5.

- Establecer el estado del arte en tres puntos: 1) general de nanotecnologías, 2) guiado y focalización, y 3) libros publicados. El punto dos, que es de mayor interés para el fin propuesto, particulariza en: a) fenómenos físicos, b) magnetoforesis, y c) casos experimentales. Con esto conseguido se establecerán los caminos a seguir en adquisición de materiales y experimentación propuesta.
- Diseño de experimentos. Esta etapa es crítica ya que de ahí derivan los materiales y métodos a seguir.
- Compra del material necesario.
- Montaje de experimentos y simulaciones que ayuden con los fines propuestos.
- Análisis de resultados, que abren la posibilidad de conclusiones primarias, retroalimentación y rediseño de experimentos. Esta última etapa es necesaria tantas veces como se haga optimización en procesos o métodos de la experimentación.

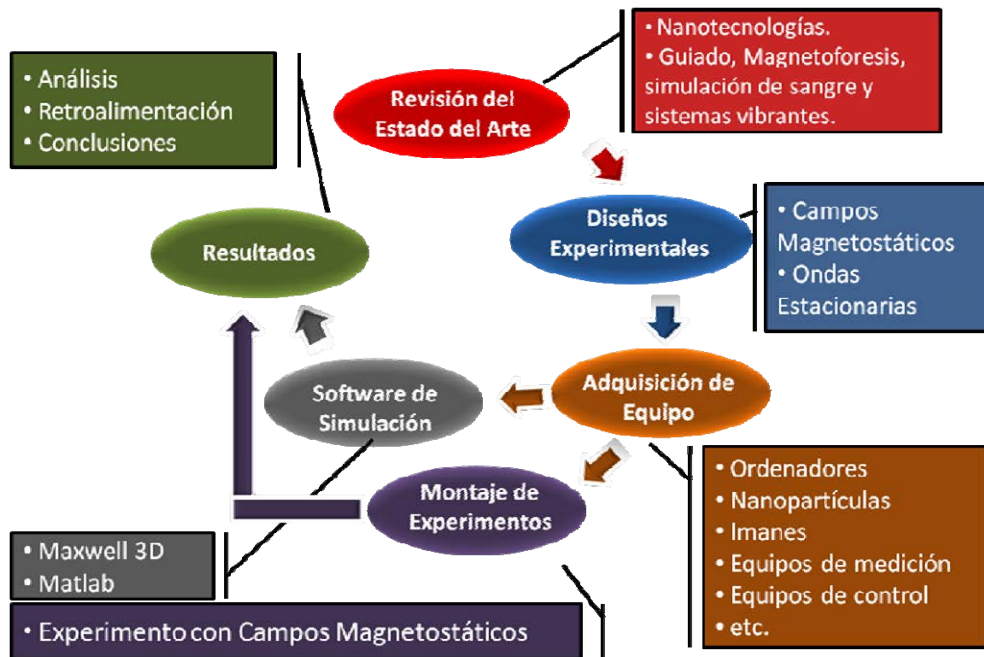


Figura 5. Metodología sugerida para la consecución de los objetivos planteados.

1.7 Infraestructura empleada

La infraestructura empleada se enumera a continuación:

- Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina del Centro de Tecnología Biomédica perteneciente a la Universidad Politécnica de Madrid (LBN-CTB-UPM):
 1. Ordenador HP de alto desempeño computacional.
 2. Viscosímetro de precisión.
 3. Agitador magnético con sensor de temperatura.
 4. Equipo de baño térmico.
 5. Equipo de ultrasonidos.
 6. Material de laboratorio: tubos de ensaye, vasos de precipitados, pipetas de precisión, pinzas, cajas de Petri, etc.
 7. Ordenador de control remoto.

8. Sistema de visualización para captura de imagen y video.
 9. Microscopio de alta fidelidad.
 10. Cámara de rayos ultravioleta.
 11. Equipo de caracterización magnética AGFM (Alternating Gradient Force Magnetic).
 12. Micro y nanopartículas comerciales.
- Laboratorio del Departamento de Física de la Facultad de Ciencias perteneciente a la Universidad Autónoma de Madrid (DF-FC-UAM)
 - Planta de experimentación con animales a cargo del Departamento de Oftalmología del Hospital Universitario Ramón y Cajal (Oft-HURyC).

1.8 Organización de la Tesis

En este documento de Tesis Doctoral el primer capítulo ha estado destinado a presentar el proyecto: hipótesis, objetivos y metodología de investigación. Una vez hecho lo anterior se procede, en el capítulo 2, a una evaluación del estado del arte y de la técnica; en el capítulo 3 a la presentación de conceptos importantes para la lectura fluida de la tesis, y en el capítulo 4 los modelos matemáticos empleados. Los capítulos 5 y 6 muestran los resultados asociados a la caracterización dinámica de partículas magnéticas y el uso de ferrofluidos como taponadores de agujeros retinianos, respectivamente. Finalmente el capítulo 7 ofrece todas conclusiones de los resultados obtenidos así como el trabajo futuro que pudiese surgir a raíz de este trabajo de investigación.

CAPÍTULO 2

2. Estado del Arte

2.1 General

La Nanotecnología ha encontrado su nicho de acción en aquellos lugares a los cuales es imposible llegar a través de una intervención quirúrgica, donde la entrega de fármacos se imposibilita o en la penetración celular, ya sean propias del organismo o tumorales; como pueden ser revisados en [Alexiou et al., 2006, Mornet et al., 2004]. Así mismo, en [Alexiou et al., 2005, Weitschies et al., 2005] se promueve el marcado en células u órganos del cuerpo para su posterior visualización.

Debido a las diversas aplicaciones que se les han encontrado a las PMs, y los diferentes fenómenos observados consecuencia de la aplicación de campos magnéticos externos en las mismas, han surgido un sinfín de vertientes de investigación, entre las cuales se encuentran: a) manufactura de PMs, b) diseño e implementación de dispositivos electrónicos, c) ciencia de los materiales magnéticos con los que se fabrican las PMs, d) caracterización de PMs, e) teoría

computacional, por mencionar algunas. En consecuencia se pueden enumerar algunas de las áreas con mayor proliferación al momento de acuerdo con [cor, 2008, cor, 2009]

1. Nanobiotecnología
2. Nanomedicina
3. Nanoelectrónica
4. Electrónica Molecular
5. Nanomateriales
6. Nanoquímica
7. Nanomagnetismo
8. Nanofotónica
9. Nanoóptica
10. Nanotubos
11. NEMS / MEMS
12. Técnicas de Microscopía diversas
13. Simulaciones a Nanoescalas

Cabe resaltar que existen muchas variables alrededor de los procesos tanto para la fabricación de las PMs como de los efectos producidos al estar inmersos en campos magnéticos. Así mismo, destacar que su desarrollo ha tomado varias décadas de investigación y tuvo sus inicios con la búsqueda de los materiales con las características más apropiadas para su fabricación, esto se puede corroborar en [Mornet et al., 2004, Niemeyer, 2001, West and Halas, 2003]. Posteriormente, vino el estudio de los fenómenos asociados a las PMs en

respuesta a campos magnéticos, estáticos o alternos, y que entre otros trabajos se pueden revisar [Aurich et al., 2007, Fischer et al., 2005, Wetchakun and Phanichphant, 2008]. Una vez se alcanzaron los objetivos planteados se pasó a la identificación de aplicaciones potenciales en la medicina y las posibilidades viables para lograr la biofuncionalización eficiente de las PMs para ofrecer soluciones tangibles a los profesionales de la salud, dos aportaciones al respecto son [Aurich et al., 2007, Wang et al., 2008].

2.2 Guiado y focalización con CMEs

El estado del arte para el guiado y la focalización de PMs empleando CMEs se puede dividir en: 1) fenómenos físicos, 2) magnetoforesis, y 3) casos experimentales.

2.2.1 Fenómenos Físicos

Los fenómenos físicos asociados a la influencia de CMEs sobre las PMs han sido estudiados por autores como [Kotitz et al., 1999, Romanus et al., 2002, Rudyak and Belkin, 2003, Fischer et al., 2005, Kalambur et al., 2005, Fukumori and Ichikawa, 2006, Schmidl et al., 2007]; quienes exponen principalmente dos fenómenos: la relajación de Néel y la de Brown. Aunque dichos fenómenos se han estudiado desde hace mucho tiempo con otras intenciones, se han retomado para la comprobación de los comportamientos de las PMs. En el caso particular de este trabajo se ha considerado lo publicado en [Kalambur et al., 2005]; en esta referencia se hace una revisión de trabajos anteriores y se mencionan aplicaciones biomédicas potenciales.

2.2.2 Magnetoforesis

La magnetoforesis se refiere a la aplicación de CMEs provenientes de imanes permanentes o electroimanes. Sus usos varían, como se puede revisar en [Adams et al., 2008, Liu et al., 2007, Luciani et al., 2009, Zhao and Helseth, 2007, Leigh et al., 2005, Park et al., 2009, Majetich and Sachan, 2006, Hatch and Stelter, 2001]; donde se abarcan temas como: separación y manipulación celular, entrega de fármacos, aceleración de masas, levitación diamagnética, localización de partículas, bioseparación, imagenología, diseño y construcción de arreglos de imanes, entre otros. Además, proponen aplicaciones oftalmológicas, biológicas, tratamiento de cáncer y caracterización de propiedades mecánicas de las PMs.

2.2.3 Casos Experimentales

En esta sección se destacan trabajos donde la experimentación ha sido lo más importante, tal es el caso de [Holligan et al., 2003], en el cual reproducen el medio ocular para la incrustación de Nanopartículas Magnéticas de Fe_2O_4 con un diámetro de 10 nm para contrarrestar desprendimientos retinales y otras retinopatías. Por otro lado, en [Alekseev and Tikhomirova, 2003], [Khan et al., 2003] y [Zborowski et al., 2003] se usa la magnetoforesis como medio para tratamiento de enfermedades oculares, identificación de heterogeneidad en las membranas y estudio de glóbulos rojos de la sangre, respectivamente. Todas ellas datan de 2003 y marcan un punto de partida importante del guiado como aplicación biomédica, junto con el trabajo de [Pankhurst et al., 2003].

Por otro lado, tenemos que en el 2005 hubo mayor aportación en otras vertientes y como estudio experimental solamente se destaca el de [Kalambur et al., 2005], en el cual se presentan resultados visibles del guiado basándose en resultados previos de otras contribuciones como las mencionadas en el párrafo anterior.

El siguiente año se encuentran dos publicaciones de interés que son [Moore et al., 2006] y [Kashevsky et al., 2006]. En la primera, los esfuerzos van orientados a la identificación de eritrocitos infectados con malaria y la segunda es un estudio con células tumorales HeLa para la observación de la susceptibilidad magnética y los efectos con magnetoforesis.

Gracias a las investigaciones realizadas sobre otros aspectos que tienen consecuencias importantes en la experimentación, las aportaciones en los próximos tres años: 2007, 2008 y 2009; fueron en aumento. Entre aquellas más destacables están [Barnes et al., 2007, Seliger et al., 2007, Jing et al., 2008, Choi et al., 2008, Gurova and Babina, 2008]. Los tópicos se enumeran a continuación en el mismo orden de mención:

- 1) Incorporación de NPMs en el oído medio para observar la penetración de membrana. También realizaron experimentación in vitro.
- 2) Hicieron un modelo de sistema circulatorio real para la incorporación de NPMs y observar la respuesta a la aplicación de un campo magnético externo.
- 3) Separación de leucocitos utilizando un equipo de magnetoforesis.

- 4) Se hace uso de la magnetoforesis para observar la permeabilidad de NPMs a través de la piel de ratones de laboratorio.
- 5) Empleo de la magnetoforesis como elemento de rehabilitación de niños con parálisis cerebral aplicándola en ácido glutámico y sulfato de magnesio.

Si bien el estado del arte es amplio, aún existen incógnitas a resolver y sobre todo mayor experimentación in vivo, ya que ésta definirá realmente la aplicación final en los seres humanos.

2.3 Actualidad del guiado y la focalización de PMs

Como se ha mencionado con anterioridad, el 2007 es un punto de inflexión en la proliferación de las técnicas de manipulación magnética de PMs. A partir de ese año ha crecido exponencialmente la aportación al estado del arte. Las vertientes tomadas de manera generalizada se centran en: 1) la utilización de nuevas técnicas de manipulación [Alu and Engheta, 2009, Biris et al., 2009, Chorny et al., 2009, Chorny et al., 2010, Johansson et al., 2010, Kim et al., 2009, Li et al., 2010, Liu et al., 2010, Ma et al., 2009, Seip et al., 2010, Vats et al., 2010, García et al., 2009, García et al., 2010a, García et al., 2011, García et al., 2010b, García et al., 2012], en ellas se destacan la utilización de campos magnéticos estáticos con arreglo de imanes permanentes, ultrasonidos y microscopio de fuerza atómica; 2) los materiales empleados para su fabricación, teniendo como objetivo lograr adherir fármacos, grupos amino, proteínas, etc., para interactuar con el cuerpo humano así como la biocompatibilidad de los recubrimientos para evitar la toxicidad [Cao et al.,

2010, Chorny et al., 2009, Chorny et al., 2010, Grieger et al., 2009, Ma et al., 2009, Shi et al., 2009, Wang et al., 2010, Yang et al., 2009, Zhang and Liu, 2009, Ferro et al., 2008, Ferro et al., 2009, Ferro et al., 2010a, Ferro et al., 2010b]; y 3) la posible aplicación que pudieran tener para tratamiento o diagnóstico de diversas enfermedades entre las que se destacan el cáncer, trombosis, disfunción endotelial, patologías del corazón, Alzheimer, Mal de Parkinson, padecimientos del ojo humano, entre otros [Biris et al., 2009, Cao et al., 2010, Chorny et al., 2009, Chorny et al., 2010, Grieger et al., 2009, Jeon et al., 2010, Li et al., 2010, Liu et al., 2010, Ma et al., 2009, Shi et al., 2009, Vats et al., 2010, Wang et al., 2010, Yang et al., 2009, Ye and Yang, 2009, Holligan et al., 2003, Mina et al., 2009, Mina et al., 2010, Félix et al., 2009a, Félix et al., 2010, Félix et al., 2009b, Aznar et al., 2010].

Es importante destacar que de las referencias mencionadas en esta sección 13 son aportaciones a congresos y publicaciones del propio Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina (LBN), con esto se hace constar que en el LBN se trabaja a la par del estado del arte [Ferro et al., 2008, Ferro et al., 2009, Ferro et al., 2010a, Ferro et al., 2010b, García et al., 2009, García et al., 2010a, García et al., 2011, García et al., 2012, Mina et al., 2009, Mina et al., 2010, Aznar et al., 2010, Félix et al., 2009a, Félix et al., 2010, Félix et al., 2009b].

2.4 Libros de Reciente Publicación

Hacer mención de los libros empleados en este trabajo de investigación es importante ya que da una idea de la innovación del tema. Principalmente se

destacan los siguientes: [Parker and Studders, 1962, Getzlaff, 2007, Stöhr and Siegman, 2006, Vo-Dinh, 2007, Varadan et al., 2008].

El primero ofrece la información más relevante sobre el diseño y las aplicaciones de los imanes permanentes, yendo desde las características de los materiales usados para la fabricación de imanes hasta las aplicaciones potenciales de los mismos. Cabe resaltar que las aplicaciones hoy en día varían de las de la fecha de publicación, pero la teoría se ajusta perfectamente a los fines propuestos.

Los tres libros que datan de 2006 y 2007 hacen un repaso de toda la teoría magnética, los fenómenos involucrados en ella y las posibles aplicaciones. Así mismo, presentan una breve introducción a las aplicaciones de Nanotecnologías, materiales magnéticos, Nanopartículas magnéticas, sus fenómenos asociados, entre otras cosas. Finalmente [Varadan et al., 2008], data del 2008 y comprende temas similares a los de años anteriores pero incluye diseño y aplicaciones para nanosistemas y nanosensores.

2.5 Revisión de Patentes

Puesto que de este trabajo de investigación surge una potencial aplicación del uso de micro y nanopartículas magnéticas en el tratamiento de enfermedades del ojo humano, hacer una revisión de patentes con estos fines cobra sentido. La presente revisión abarca tres: 1) implantes oculares, 2) ferrofluidos, fármacos y/o partículas, y 3) tratamientos y metodologías para la corrección del desprendimiento de retina.

La patente WO2010012836-A2; EP2151253-A1 [Doelle et al., 2010] describe la utilización de una silicona para cubrir implantes ortopédicos o prótesis, tiene biocompatibilidad y puede usarse además para implante coclear o lente intraocular. En relación a la anterior está la patente US 2009274744-A2 [Kunzler et al., 2007] que es una matriz a base de silicona biofuncionalizada y puede ser utilizada en implantes oculares como recubrimiento. Por otro lado está la patente WO2009133575-A1 [Beccaro et al., 2009] que es un medicamento para enfermedades oftalmológicas cuya consistencia y agentes que lo componen, permiten usarlo como taponador en el desprendimiento de retina, entre otras funcionalidades. Similar al aceite de silicona. Finalmente se hace mención de la patente WO2008109886-A1 [Desai et al., 2008] que está comprendida de una película de nanofibras y microcanales que permiten la inserción de células progenitoras de retina. A pesar de las características de las invenciones anteriores no son aplicables en la presentada en este documento, ya que la parte de recubrimiento está hecha en dos fases, que no incluyen la utilización de siliconas o alguno de sus derivados, para un mejor encapsulamiento del implante ocular de la invención. Otra patente que hace referencia a implantes oculares es WO2007113832-A2; EP20011427-A2; US2009048671-A1; WO2007113832-A3; IN200802299-P3 [Lipshitz et al., 2007], en la cual se propone un Implante ocular para pacientes con enfermedades retinales. Está compuesto de un arreglo óptico formando dos imágenes en la retina que incluyen parte del campo visual periférico y parte del campo central, respectivamente. Sin embargo, no aplica a la presente invención

ya que en conjunto hacen la corrección de la propia retina recuperando todas sus propiedades sin necesidad de implantar sustitutos de ellas.

Diversas patentes del 2006 a la fecha han intentado atacar el problema del desprendimiento de retina utilizando fármacos e inhibidores tipo kinase que se inyectan en el ojo ya sea en matrices o como partículas biodegradables, pero estos no aplican a la invención descrita y de ninguna manera la limitan ya que no contiene ninguno de los elementos que las componen o propiedades de liberación similares. Las patentes en orden cronológicamente descendente se enuncian a continuación y se anexa una breve descripción de ellas para constatar que no limitan la presente invención: WO2010035768-A1 que es un agente farmacéutico para la prevención y tratamiento de enfermedades retinales [Fujita et al., 2010], GB2463151-A; WO2010028088-A2; US2010093865-A1 que son sustitutos amino inhibidores útiles para el tratamiento de la degeneración macular debida a la edad, desprendimiento de retina, retinitis pigmentosa, etc. [Kubota et al., 2010], US2010074957-A1 cuyas intenciones son la entrega de fármacos intraoculares para el tratamiento del padecimiento del ojo. Formado por microesferas biodegradables con agentes activos y un medio portador viscoso[Blanda et al., 2010], US2010048608-A1 que es un tratamiento a base de inhibidores para edemas neovasculares oculares debidos a padecimientos como el desprendimiento de retina, retinopatía diabética, etc. [Bingaman and Klimko, 2010], US2009286773-A1 que comprende un inhibidor de kinase tirosina en una matriz de polímero que libera fármacos por cerca de una semana y hasta un año [Boral et al., 2009],

WO2009126569-A1 presenta un método para la administración de sustancias terapéuticas dentro del ojo humano y animal. La administración se hace con un implante ocular que contiene lumen para sus inserción en el nervio óptico y entonces se produce la liberación del fármaco [Karageozian, 2009], WO2009132277-A1; US2009269410-A1 es un compuesto de nanopartículas de óxido de cerio para la inhibición, reducción o reversión de la neurovascularización y proliferación neovascular [McGinnis et al., 2009], WO2009124391-A1 que son micropartículas derivadas de linfocitos para diagnóstico, prevención o tratamiento de retinopatías, cáncer o procesos de angiogénesis [Hardy and Yang, 2009], WO2009074823-A1 que es una composición farmacéutica para el tratamiento del desprendimiento de retina. Está basada en nanopartículas con una gravedad inducida mayor a la del líquido permitiendo el taponamiento y la liberación del fármaco [Garvey et al., 2009], WO2009046446-A2; WO2009046446-A3 comprendida por una composición basada en dendrímeros para proteger dispositivos implantables que permitan tratar desórdenes relacionados con neuroinflamación incluyendo los del ojo. Está compuesto de nanopartículas con fármacos [Eizzi et al., 2009], WO2009045479-A1; GB2454555-A; EP2091955-A1; TW200922548-A; US2009326074-A1 es un dispositivo para la administración de alcoxyfenyl-amino en padecimientos como el desprendimiento de retinal, distrofia macular o retinopatías hemorrágicas [Gall et al., 2009], US2008286334-A1 es un implante ocular útil para el tratamiento de uveítis, edema macular, desprendimiento de retina, difusión uveal, etc. Comprende un agente disperso en una matriz

biodegradable de un polímero [Shiah et al., 2008], US2008260803-A1 compuesta de implante intraocular biodegradable que contiene un inhibidor kinase y una matriz de polímero biodegradable que, en conjunto, permite la liberación del inhibidor por una semana [Hughes et al., 2008], US2008233173-A1 es un implante que contiene agentes antiinflamatorios para el tratamiento de condiciones oculares crónicas e inflamatorias [Whitcup and Weber,], US2008145407-A1 comprende un implante ocular biodegradable para el tratamiento de enfermedades del ojo. Contiene esteroides y agentes asociados a la biodegradación [Huang et al., 2008a], US2008138382-A1; TW200603775-A es un tratamiento para padecimiento del ojo que involucra la inserción de un implante intraocular biodegradable para liberación de esteroides [Huang et al., 2008b], US2008089923-A1; WO2008060359-A2; WO2008060359-A3; EP2068828-A2; CA2664879-A1; JP20101504822-W trata de un implante ocular biodegradable útil para la liberación de agentes activos en el interior del ojo para el tratamiento de enfermedades del ojo humano[Burkstrand et al., 2008], WO2008121768-A2; US2009060980-A1; WO2008121768-A3 consta de un fármaco compuesto de Glycan multivalente para el tratamiento o prevención de enfermedades retinales[Jablonski, 2008], US2008269181-A1 es un compuesto con corticosteroides y portador acuoso para el tratamiento de padecimientos retinales[Lyons et al., 2008], US20072245247-A1 presenta un implante médico a base de una matriz hidrofóbica biodegradable con agentes bioactivos para el tratamiento de varios padecimientos del ojo [Chudzik et al., 2007a], US2007260203-A1; WO2007130945-A1; EP2026764-A1; AU2007248143-A1;

CA2651300-A1; JP2009535422-W hace mención a un implante ocular para el tratamiento de enfermedades del ojo. Está comprendido por un componente vaso-activo con portadores asociados con la activación y dilatación, todo ello sobre una matriz biodegradable de polímero [Donello et al., 2007b], US2007212395-A1 aporta un Implante intraocular para padecimientos oftálmicos. Tiene un agente activador sobre una matriz de polímero biodegradable [Donello et al., 2007a], US2007224247-A1 es un implante médico para la liberación de un agente bioactivo para el tratamiento de condiciones oculares, como el desprendimiento de retina [Chudzik et al., 2007b], WO2006093758-A1; US2006204548-A1; IN200706207-P1; EP1863420-A1; AU2006218931-A1; NO200704100-A; KR2007116030-A; CN101188989-A; JP2008531687-W; MX2007010305-A1; ZA200706622-A; RU2357709-C1; BR200607483-A2 consta de un microimplante ocular para el tratamiento de enfermedades del ojo. Comprende una mezcla homogénea con un agente activo en una matriz biodegradable de polímero. Además tiene un diámetro específico para su utilización [Nivaggioli et al., 2006], WO2006028361-A1; EP1787643-A1; US2008102099-A1; MX2007002802-A1 trata sobre un implante oftálmico que comprende una matriz o microesferas de polímero biodegradable que suministran esteroides anti-inflamatorios, agentes activos y ácido hialurónico [Jimenez et al., 2006].

Con respecto a posibles métodos o tratamientos alternativos para la corrección del desprendimiento de retina se hacen mención a patentes en el rango de 2005 - 2010. En ellas se tratan temas variados como la perturbación

morfofuncional de la zona central de la retina después de la cirugía del desprendimiento de retina (RU2381774-C1, [Ivanova et al., 2010]); Almohada terapéutica para los pacientes que han sido operados de un desprendimiento de retina (CN201341698-Y, [Chang et al., 2010]); una cirugía para la corrección del desprendimiento de retina que involucra una incisión desde una superficie externa de la esclerótica y se introduce un dispositivo con esponja la cual es posicionada en una porción de la coroides hacia la porción de retina desprendida (US2009254023-A1; WO2009126464-A1, [Akduman, 2010]); metodología para la corrección del desprendimiento de retina inyectando un líquido con polvo magnético que interacciona con un imán permanente en forma de anillo colocado sobre la esclerótica. Además se inyecta gentamicin como elemento auxiliar (CN101524303-A, [Gong and Wang, 2009]); cirugía vitro-retinal donde un endoiluminador es colocado desde una sección determinada hasta una parte del cuerpo vítreo formando un túnel corneal y ayudando a prevenir hipotonía posoperatoria y el riesgo de catarata tras intervenciones de desprendimiento ciliocoroidal y de retina (RU2367389-C1, [Andreev et al., 2009a]); terapia para el desprendimiento retinal regmatógeno en medicina empleando un filamento de poliéster para suturar una esponja de silicona en el agujero del desprendimiento retinal (RU2360656-C1, [Andreev et al., 2009b]); método para la elección de la táctica quirúrgica a seguir en desprendimiento retinal infantil. Usa un túnel transconjuntival y taponador (RU2367390-C1, [Noroev et al., 2009]); método para reparar el desprendimiento de retinal robóticamente aplicando unos clips en el tejido y

recolocar la retina a la esclerótica (US2009036900-A1, [Moll, 2009]); utilización de un viscoelástico para el reacomodo de la retina (WO2008134616-A2, [Sponsel, 2008]); método para la prevención y la progresión del desprendimiento de retina (RU2333739-C1, [Belyj et al., 2008]); método para el tratamiento de rupturas retinales periféricas con fracción vítreo y desprendimiento de retina subclínica. Consta de tres fases y en todas ellas se emplean láseres (RU2325884-C2, [Starunov and Shchuko, 2007]); procedimiento, materiales y métodos para la corrección del desprendimiento de retina empleando las interacciones magnéticas de nanopartículas magnéticas y un anillo de líquido con polvo de imán como taponadores (US20050203333-A1, [Dailey and Riffle, 2005]).

El estado del arte y de la técnica ofrecida ha permitido establecer las bases del presente trabajo de investigación, el cual inicia su camino hacia la revisión de los resultados obtenidos con el Capítulo 3, dedicado a los conceptos preliminares.

CAPÍTULO 3

3. Conceptos

3.1 Materiales Magnéticos

El Guiado y la Focalización de micro y nanopartículas magnéticas nace de la necesidad de los investigadores dedicados a la biomedicina o bioingeniería por incorporar dichos tamaños de partículas en lugares específicos, esto es, poder controlar su movimiento en el torrente sanguíneo, órganos o sistemas de interés. Para lograr lo anterior es primordial entender las propiedades de los materiales magnéticos con que se manufacturan las PMs. Así mismo, se debe poner especial atención en sus comportamientos al estar inmersas en un campo magnético, estático o alterno, y fluidos controlados.

Puesto que la intención es aprovechar las propiedades magnéticas de los materiales, es conveniente comprender el concepto de Campo Electromagnético (CEM), éste se tratará de definir de manera sencilla. El CEM se origina por las propiedades de carga de la materia, es decir, el flujo de cargas a través de un material conductor. Los fenómenos electromagnéticos se describen mediante

dos magnitudes vectoriales (magnitud, dirección y sentido) llamadas: a). Intensidad de Campo Eléctrico (\vec{E}) medida en [V/m], y b). Intensidad de Campo Magnético (\vec{H}) con unidades de [A/m]. Ahora bien, hablando de materiales magnéticos, el CEM se producen por dos causas: a) los momentos angulares orbitales y b) el espín de los electrones; que al estar en continuo movimiento en el material experimentan fuerzas ante un campo magnético aplicado [Bedanta and Kleemann, 2009].

Las propiedades magnéticas de los materiales están definidas por:

- Momento Magnético
- Intensidad de Campo Magnético
- Inducción Magnética
- Magnetización
- Susceptibilidad y Permeabilidad Magnéticas

3.1.1 Momento Magnético

El momento magnético μ se puede explicar empleando la idea de un circuito cerrado infinito de área dA que conduce una corriente I y, por lo tanto su cantidad de momento magnético $d\mu$ estará dado por

$$d\mu = IdA \quad (3-1)$$

Donde, I está definida como la carga q que fluye por unidad de tiempo Δt a lo largo de una sección y la dirección del vector de área está regida por la regla de la mano derecha. Haciendo una integración de los momentos

magnéticos pertenecientes a dichos circuitos cerrados, se calcula μ para un tamaño finito de circuito como

$$\mu = \int d\mu = I \int dA \quad (3-2)$$

Debido a que las corrientes de los circuitos vecinos se cancelan mutuamente solo queda la corriente que fluye en la periferia de un circuito cerrado finito.

3.1.2 Intensidad de Campo Magnético

En un circuito cerrado por el cual circula una corriente se produce un campo magnético H en el centro del circuito, que tiene como característica ser perpendicular al plano en el que fluye la corriente y se define de la siguiente manera

$$H = \frac{I}{2r} \quad (3-3)$$

Donde, I es la corriente y r es la distancia del eje por el que va H al circuito cerrado donde fluye I (ver figura 6). Típicamente el campo magnético tiene unidades de Oersted [Oe] y su equivalencia es: 1 Oe = 79.59 [A/m].

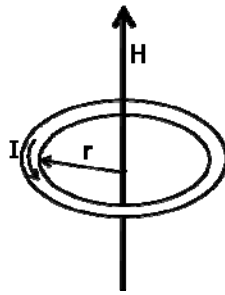


Figura 6. Campo Magnético resultante del flujo de corriente en el anillo [Stöhr and Siegman, 2006].

De los trabajos de Oersted que posteriormente fueron ampliados por Ampère y Biot – Savart, surgieron las dos propiedades fundamentales de simetría del campo magnético:

1. ***H*** se conoce también como **Vector Axial** ya que define el sentido de rotación.
2. ***H*** cambia de signo cuando la corriente se invierte.

3.1.3 Magnetización

La magnetización ***M*** se define como el total de momentos magnéticos por unidad de volumen, y se considera como un vector de campo magnético de suave variación. Entre otras cosas, ***M*** determina el máximo campo magnético que puede ser generado por un cuerpo completamente magnetizado. Cabe resaltar que la magnetización en el vacío no existe.

$$M = \mu \frac{N}{V} \quad (3-4)$$

3.1.4 Inducción Magnética

La inducción magnética \mathbf{B} es la respuesta de un material a la aplicación de un campo magnético externo \mathbf{H} , y también se conoce como densidad de flujo magnético. La relación entre \mathbf{B} y \mathbf{H} es una propiedad intrínseca de los materiales y en el vacío es directamente proporcional de acuerdo a

$$\mathbf{B} = \mu_0 \mathbf{H} \quad (3-5)$$

Donde, μ_0 es la permeabilidad magnética en el vacío y \mathbf{H} la intensidad de campo magnético aplicado.

Sin embargo, dentro de un material la inducción magnética difiere en magnitud y dirección, ya que tiene una relación con la magnetización \mathbf{M} .

$$\mathbf{B} = \mu_0 (\mathbf{H} + \mathbf{M}) \quad (3-6)$$

Las unidades para B son usualmente las Teslas (T) o los Gauss (G), y la equivalencia correspondientes es: $1 \text{ T} = 10^4 \text{ G}$.

3.1.5 Susceptibilidad y Permeabilidad Magnética

La susceptibilidad magnética χ se define de la relación entre magnetización e intensidad de campo magnético, y tiene como característica ser adimensional

$$\chi = \frac{M}{\mu_0 H} \quad (3-7)$$

Debido a que en la práctica no existen situaciones donde haya un vacío completo, se debe considerar una permeabilidad magnética relativa de los

materiales, la cual está relacionada directamente con la susceptibilidad magnética

$$\mu_r = (1 + \chi) \quad (3-8)$$

3.1.6 Clasificación de los Materiales Magnéticos

La clasificación básica de los materiales magnéticos hace referencia a tres fenómenos que ocurren en dichos materiales al aplicar un campo magnético, y se presentan en la Tabla I con sus principales características y condiciones. Entender dichas características y definiciones permite diferenciar entre los materiales y sus posibles aplicaciones. En el caso particular de este trabajo se buscan aquellos materiales que permitan una mejor manipulación por medio de la aplicación de campos magnéticos externos, ya sean estáticos o alternos.

Tabla I. Clasificación de los materiales de acuerdo al fenómeno que produce su comportamiento magnético y sus principales características magnéticas que los definen [Stöhr and Siegman, 2006].

Material	Fenómeno que lo produce	Características principales
Diamagnético	Si un campo magnético se aplica y actúa individualmente sólo sobre los electrones móviles se da dicho efecto, es decir, existe puramente la inducción.	<ul style="list-style-type: none"> i. Los dipolos magnéticos inducidos se orientan antiparalelamente con respecto al campo de excitación gobernados por la ley de Lenz. ii. susceptibilidad es ligeramente negativa, $\chi^{dia} = Cte. < 0$ y se deduce de la expresión (8). iii. la intensidad de la respuesta es muy pequeña.
Paramagnético	Este fenómeno se da a nivel atómico y provocado por la superposición de los momentos magnéticos aportados por los electrones de la capa más externa del átomo y lo cual da como resultado un momento magnético neto del mismo.	<ul style="list-style-type: none"> i. La alineación de los momentos magnéticos es paralelo al campo aplicado. ii. la susceptibilidad de estos materiales es ligeramente positiva, $\chi^{para} > 0$. iii. la energía térmica tiene efectos sobre estos materiales de tal manera que la susceptibilidad puede ser reescrita como $\chi^{para} = \chi^{para}(T)$, lo cual indica la

		dependencia de dicho parámetro con respecto a la temperatura; el resultado inmediato de lo anterior es un reordenamiento de los momentos magnéticos al azar.
Magnetismo Colectivo	Se identifican por la variación de la susceptibilidad magnética con respecto a la temperatura y el historial del material.	i. Fuerte dependencia con la temperatura, intensidad de campo y el historial del material a lo largo del tiempo, $\chi^{col} = \chi^{col}(T, \mathbf{H}, "historia")$. ii. el parámetro más significativo en estos materiales es la temperatura a la cual se observa una magnetización espontánea.

De la Tabla I, los materiales con magnetismo colectivo abarcan un rango amplio de posibilidades, éstos se subdividen en tres principalmente y se muestran en la Tabla II, junto con las propiedades que los caracterizan a cada uno de ellos.

Tabla II. Subdivisión de los materiales con magnetismo colectivo y sus características principales [Stöhr and Siegman, 2006].

Material	Características principales
Ferromagnético	i. Su temperatura crítica se conoce como Temperatura de Curie T_C . ii. Cuando $0 < T < T_C$ los momentos magnéticos presentan una orientación preferente. iii. si $T = 0$ todos los momentos magnéticos se orientan paralelamente.
Ferrimagnético	i. La estructura atómica se divide en dos y cada una de ellas presenta una magnetización diferente $\mathbf{M}_A \neq \mathbf{M}_B$. ii. la magnetización total será la suma de ambas $\mathbf{M} = \mathbf{M}_A + \mathbf{M}_B \neq 0$ para $T < T_C$.
Antiferromagnéticos	i. Estos materiales son un caso especial de los ferrimagnéticos. ii. Tienen una temperatura crítica conocida como temperatura de Néel T_N . iii. Dicha temperatura está caracterizada por el comportamiento de la magnetización: $ \mathbf{M}_A \neq \mathbf{M}_B \neq 0$ para $T < T_N$ y $\mathbf{M}_A = -\mathbf{M}_B$. iv. Su magnetización total será $\mathbf{M} = \mathbf{M}_A + \mathbf{M}_B \equiv 0$.

Existe la tendencia de los materiales con magnetismo colectivo de pasar a comportamiento paramagnético al presentar valores por encima de la

temperatura crítica, por esa razón hay que tener en cuenta las propiedades que los definen para no caer en errores al momento de utilizar partículas de materiales magnéticos.

Por otro lado, debido a los avances en las investigaciones de materiales magnéticos para nanotecnología, ha surgido un nuevo tipo de material conocido como Superparamagnético. El principio magnético de este material está basado principalmente en el tamaño de las partículas, el cual oscila entre los 10 y 50 nm. Lo anterior permite tener nanopartículas monodominio cuyos costos energéticos en la formación de fronteras de dominio sobrepasa cualquier energía de desmagnetización guardada. Hacer una revisión de este tipo de material llevaría mucho y por tanto se recomienda revisar [Bedanta and Kleemann, 2009].

3.2 Imanes Permanentes

Los imanes permanentes han sido estudiados y empleados desde las Culturas China y Griega, hasta hoy día que se buscan sus posibles usos en biomedicina o nanotecnología. Su desarrollo ha sido el conjunto de formulaciones empíricas, experimentación y teorías; que han permitido mejorar los materiales empleados para su diseño y fabricación, así como inferir el comportamiento de las ondas electromagnéticas.

Un imán es cualquier objeto que reaccione a la aplicación de un campo magnético externo, sin embargo esto no lo hace un imán permanente. Lo que le da sus características de imán permanente es que, una vez inmerso en un campo magnético externo reacciona a éste, pero además cuando se extrae de

dicho campo continúa teniendo propiedades magnéticas. Los imanes permanentes se pueden clasificar a grandes rasgos en dos de acuerdo al grado de reversibilidad del proceso de magnetización del material con el que fueron fabricados:

- Suaves: este tipo de material se caracteriza por tener un proceso de reversibilidad de magnetización fácil de lograr.
- Duros: el proceso de reversibilidad de magnetización en estos materiales producen un ciclo de histéresis considerablemente grande.

De acuerdo a la clasificación expuesta, se puede decir que los materiales suaves en ausencia de un campo magnético externo dejan de tener propiedades magnéticas, contrario a los materiales duros; quienes las conservan.

Para lograr un diseño de imanes permanentes eficiente se debe tener en cuenta:

- 1) la teoría electromagnética moderna,
- 2) la teoría asociada a las propiedades magnéticas de los materiales,
- 3) el material con el que serán fabricados, ya que éste define las propiedades magnéticas del imán.
- 4) entendimiento del ciclo de histéresis de los materiales, resultado de la aplicación de un campo magnético externo, que proporciona características magnéticas relevantes al momento de diseño.

- 5) Axiomas del diseño magnético, los cuales serán mencionados cuando se explique el modelado para el diseño de imanes permanentes (sección IV.3).

3.2.1 Relación entre H y B

En las secciones III.1.1 a III.1.5 se presentó la teoría asociada a las propiedades magnéticas de los materiales. Lo retomamos para entender que los imanes permanentes también están regidos por dichas formulaciones y permiten obtener medidas cuantitativas de los campos magnéticos y el estado magnético de los materiales. Aunque este apartado está basado en [Parker and Studders, 1962], la formulación matemática ofrecida en este libro es transferible a la presentada en este documento anteriormente.

Las medidas cuantitativas mencionadas se definen como:

- a) Unidad de fuerza de campo magnético, que es la fuerza de campo encontrada a un centímetro del polo magnético. Un polo magnético es un polo que colocado a un centímetro de otro polo similar en el vacío se repele con una fuerza de una dina. Dicha unidad de intensidad de magnetización es el Oersted.
- b) Unidad de estado de magnetización, que hace referencia al número de polos en una sección transversal. Esto se puede homologar al total de líneas magnéticas en una determinada área, por tanto se está hablando de la inducción magnética. La unidad definida entonces es el Gauss, que es igual a una línea por centímetro cuadrado.

En consecuencia, la relación entre Intensidad de Campo Magnético (H), y la Inducción Magnética (B) es importante y fundamental en cualquier consideración para imanes permanentes.

Cabe destacar que la razón entre H y B define la permeabilidad del material, μ_M , como

$$\mu_M = \frac{H}{B} \quad (3-9)$$

3.2.2 Histéresis en los Materiales Magnéticos

El ciclo de histéresis es la respuesta del material a la aplicación de un campo magnético externo, que tiene como característica una relación no linear entre la inducción magnética (B) y la intensidad de campo magnético (H). En ocasiones, es necesario tener una gráfica de la inducción magnética intrínseca (B_i) del material como punto de comparación. B_i es la componente de la inducción debida únicamente a la presencia del material.

La figura 7 tiene como finalidad notar la diferencia entre la inducción magnética (B) y la inducción magnética intrínseca del material (B_i). Las dos curvas mostradas difieren en que la inducción magnética intrínseca alcanza un valor de saturación B_{is} que la limita conforme el campo magnético aumenta positivamente, por otro lado la inducción magnética normal B incrementa su valor dependiendo solamente de la capacidad de producir campos magnéticos mayores. El valor de la inducción intrínseca es una característica única de cada material y definirá su comportamiento magnético en función de su composición.

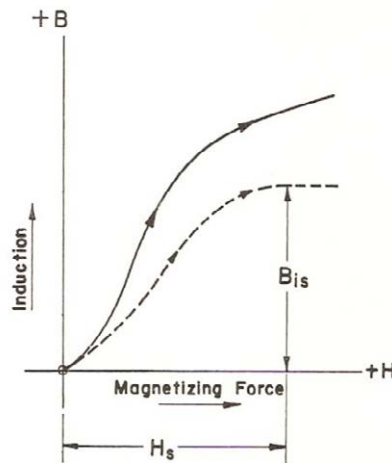


Figura 7. Comparación entre las inducciones magnéticas normal e intrínseca obtenidas a la influencia de un campo magnético. La línea continua es la primera y la punteada es la segunda [Parker and Studders, 1962].

Para tener una comparativa de las inducciones magnéticas normal e intrínseca se utiliza la siguiente relación

$$B = B_i + H\mu_0 \quad (3-10)$$

Por tanto, si se utiliza un equipo especializado como el Magnetómetro de Gradiente Alterno (AGFM) se puede caracterizar el material a utilizar para el diseño de un imán permanente, ya que éste entrega la inducción magnética del material como respuesta a la aplicación de un campo magnético alterno, y utilizando la ecuación (3-10), se puede graficar la inducción magnética intrínseca del material. Por otro lado, también es posible conocer la intensidad de campo magnético necesario para saturar el material (H_s). Típicamente el valor de la intensidad de campo magnético de saturación oscila entre las 5 y 6 veces la intensidad de campo magnético coercitivo intrínseco (H_{ci}).

Una vez alcanzado el estado de saturación, si se reduce el campo magnético aplicado a cero; la inducción no sigue el comportamiento de la gráfica original. Además, dicha inducción irá decayendo por detrás de valores

originales de intensidad de campo magnético produciéndose una intersección de la gráfica con el eje de la inducción conocido como inducción magnética residual (B_r), como se observa en la figura 8.

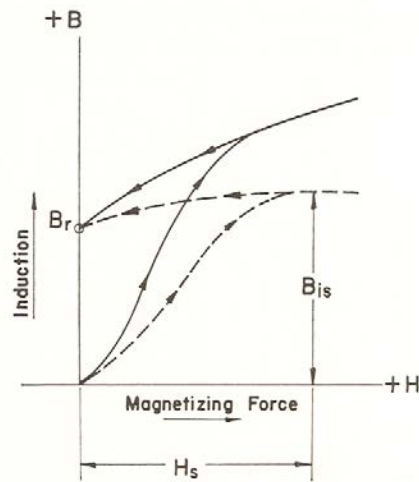


Figura 8. Respuesta del material a la aplicación de campo magnético en inversa, es decir, del valor de saturación a cero. Se identifica el punto de intersección con el eje de la inducción (B_r) conocido como inducción magnética residual [Parker and Studders, 1962].

La principal aportación de la intersección del eje de la inducción magnética es el valor de la inducción magnética residual (B_r) del material, el cual tiene como características que la intensidad del campo magnético es cero y que no hay diferencia entre las inducciones normal e intrínseca. Por tanto, establece un punto de partida importante para el análisis de materiales a utilizar en imanes permanentes.

Como se observa en la figura 9, B_r es el inicio del segundo cuadrante del ciclo de histéresis y en él se pueden destacar, además de B_r , las intersecciones de ambas gráficas con el eje de la intensidad de campo magnético, que se conocen como intensidades de campo magnético coercitivo (H_c) y coercitivo intrínseco (H_{ci}), dependiendo de si la intersección es de la gráfica de la inducción normal o intrínseca.

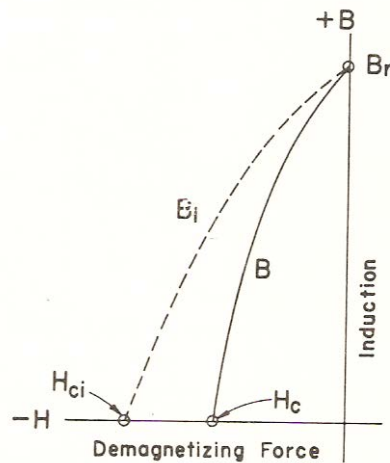


Figura 9. Visualización del comportamiento del ciclo de histéresis en el segundo cuadrante, donde se destacan los cruces de las gráficas de las inducciones magnéticas normal e intrínseca con el eje de la intensidad de campo magnético [Parker and Studders, 1962].

Independientemente de la intersección con el eje de la intensidad de campo magnético que se tome, este valor nos dice la cantidad de intensidad de campo magnético necesario para desmagnetizar el material en cuestión. La información proporcionada de este cuadrante del ciclo de histéresis permite establecer el rango de operación del imán permanente, que está relacionado a la separación entre ambas coercitividades; la cual aumenta mientras decrezca la relación B_r/H_c .

Si completamos todos los cuadrantes haciendo variar la intensidad de campo magnético positiva y negativamente, se obtiene el ciclo de histéresis completo de un material, como lo muestra la figura 10.

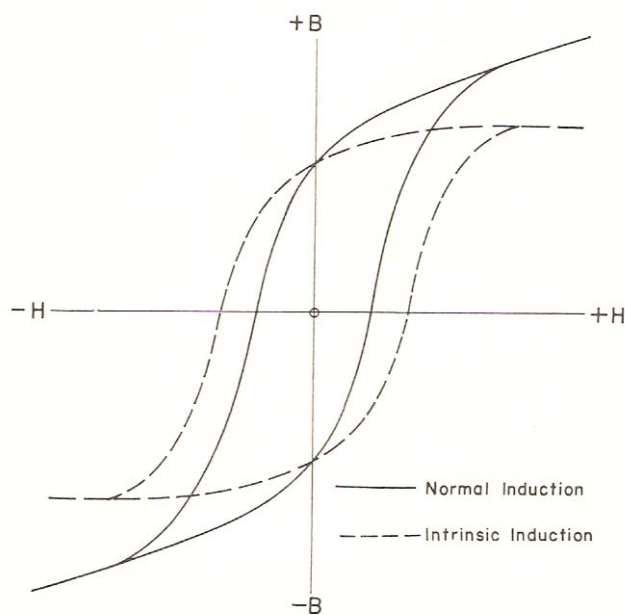


Figura 10. Ciclo de histéresis completo de un material [Parker and Studders, 1962]

Lo expuesto en esta sección lleva a concluir que la curva de B_r se usa para establecer el comportamiento del imán permanente a la influencia de un campo magnético externo, y la de B permitirá estimar las dimensiones de los mismos para conocer la energía magnética que producirán.

3.2.3 Permeabilidad en los Imanes Permanentes

La permeabilidad magnética de los materiales con los que se fabrican los imanes permanentes es de suma importancia para su diseño y fabricación, ya que permiten saber que tan dispuesto está el material en producir campos magnéticos. De un ciclo de histéresis es posible encontrar tres permeabilidades: 1) inicial μ_i , 2) máxima diferencia $\mu_{d(max)}$, y 3) retroceso μ_r .

La permeabilidad inicial se obtiene en el proceso inicial del ciclo de histéresis (primer cuadrante). Se traza una línea desde el origen y se calcula la tangente del ángulo θ . Para la permeabilidad diferencial máxima se considera el mínimo cambio de H en cualquier punto del ciclo de histéresis en el primer

cuadrante. En el proceso inicial de la curva de magnetización existirá un punto A de la figura 11 donde la relación $B-H$ alcance su máximo. El proceso para la obtención de la permeabilidad de retroceso es un poco más complejo a los anteriores, y se utiliza el segundo cuadrante del ciclo de histéresis de la figura 11. Si cuando la inducción magnética alcanza el punto C de la figura 11 se reduce el campo de desmagnetización, la inducción cambiará su trayectoria a CD_1 . Si a eso se le agrega una alternancia en el campo de desmagnetización se podrán observar ciclos internos pequeños como D_1D y F_1F . Estos ciclos de histéresis interiores se conocen como ciclos menores y el área encerrada en ellos es lo suficientemente pequeña como para estar representada por una línea a través de ellos. Sacando el promedio de las pendientes en los ciclos menores se obtiene la permeabilidad de retroceso.

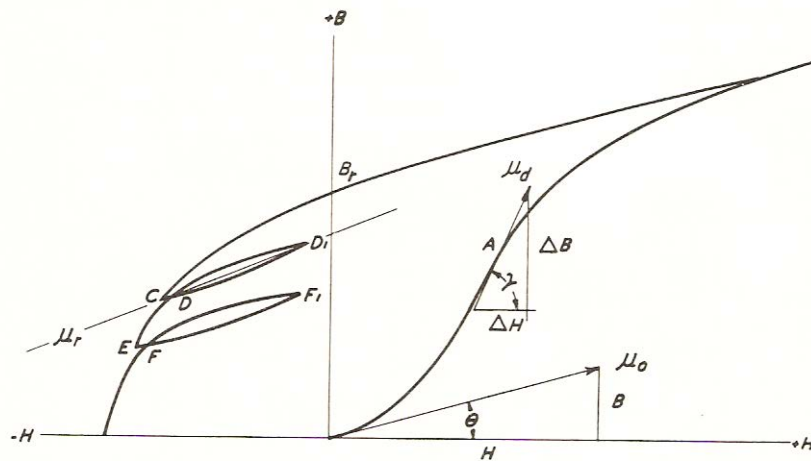


Figura 11. Permeabilidades en materiales para imanes permanentes: 1) inicial μ_i , 2) máxima diferencia $\mu_{d(max)}$, y 3) retroceso μ_r [Parker and Studders, 1962].

De acuerdo con [Parker and Studders, 1962], se ha demostrado que la permeabilidad de retroceso es casi constante para materiales con menos de 6 ciclos menores. Además, el valor de la misma permeabilidad está cerca al de la

pendiente en el punto B_r , por tanto para efectos prácticos se puede hacer una aproximación.

En la misma figura, se puede observar que la permeabilidad diferencial máxima ocurre a valores de intensidad de campo magnético proporcionales o iguales a la coercitividad intrínseca del material y a valores de inducción magnética cercanos a la inducción de saturación. Por otro lado, la permeabilidad inicial está en el mismo orden que la permeabilidad de retroceso. Así mismo, los valores pequeños de la permeabilidad inicial son característicos de fuerzas coercitivas elevadas y materiales altamente anisotrópicos.

3.2.4 Evaluación de las propiedades en Imanes Permanentes

Las relaciones establecidas entre H y B , así como los valores que pueden ser obtenidos del ciclo de histéresis son de interés para conocer las propiedades significativas de los imanes permanentes, y poder realizar un análisis de las capacidades éstos.

Una de las relaciones más importantes al momento de buscar aplicabilidad de los imanes permanentes es la energía de magnetización. Esta cantidad es el máximo valor del producto $B \times H$ en un punto (H_d, B_d) de la curva de desmagnetización dividido entre 8π , en unidades de ergs [$\text{g} \cdot \text{cm}^2/\text{s}^2$]. El uso de imanes con dimensiones para operar en el punto máximo energético permitirá obtener las mejores características de los materiales utilizados para su fabricación. Sin embargo, el valor BH_{max} no puede ser utilizado como parámetro de calidad cuando se comparan varios imanes permanentes.

Para establecer el máximo valor energético de una curva de desmagnetización se grafica el producto $B \times H$ de un número de puntos como función de B en el primer cuadrante del ciclo de histéresis como se observa en la figura 12.

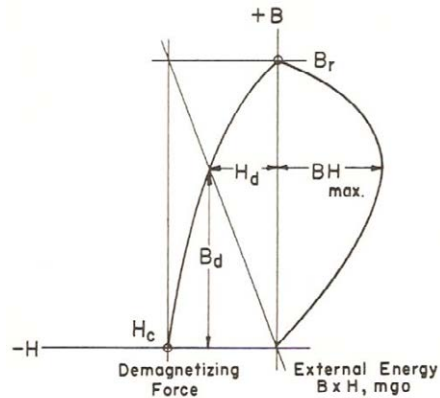


Figura 12. Obtención del valor máximo energético [Parker and Studders, 1962].

Para simplificar la búsqueda de BH_{max} puede trazarse una línea desde el punto de origen de los ejes coordenados hasta el punto (H_c, B_r) que pasará por la curva de desmagnetización en el punto (H_d, B_d) . El método para la determinación de BH_{max} resulta problemático cuando se está haciendo el análisis de muchos materiales, en este caso se recomienda utilizar gráficas de contorno energético preestablecidas para las curvas de desmagnetización sobre puestas en segundo cuadrante del ciclo de histéresis del material estudiado como se muestra en la figura 13.

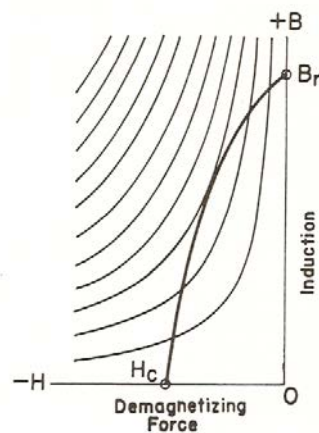


Figura 13. Ejemplo de utilización de hojas de contorno energético. El producto energético BH_{\max} será la intersección entre las curvas de contorno y la curva de desmagnetización [Parker and Studders, 1962].

En general, el producto energético de los materiales de imanes permanentes se considera como la figura de mérito de los mismos. Sin embargo, en aplicaciones reales solamente se utiliza una pequeña porción de dicha energía de magnetización, desde el punto de vista de energía útil para dicha aplicación; ya que la distribución espacial de ella provoca que los puntos máximos sean en una zona muy específica. En consecuencia, se deben considerar otras propiedades magnéticas que permitan maximizar el funcionamiento de los imanes permanentes.

Una ejemplificación de lo anterior sería la permeabilidad de retroceso, que tiene una fuerte influencia en la fuga de energía de magnetización en imanes permanentes, además de ser la propiedad magnética que mejor indicativo ofrece de la estabilidad de los mismos.

3.2.5 Comportamiento de frontera de los Imanes Permanentes

Existe otra condición importante que se puede extraer de la curva de desmagnetización, que tiene que ver con el límite donde esa curva se asume

que ha sido determinada por una condición física; esto es, “la magnetización intrínseca no puede ser aumentada por un campo de desmagnetización” [Parker and Studders, 1962]. Esto quiere decir que la curva de desmagnetización intrínseca (B_i, H) no puede pasar nunca de una línea paralela al eje $-H$ que inicia en el punto B_r .

Se ha definido entonces el segundo cuadrante de un ciclo de histéresis de un material magnético como caracterizador, ya que contiene la curva de desmagnetización del mismo y permite conocer la inducción magnética remanente y la intensidad de campo magnético coercitivo; valores que definen los imanes permanentes. Partiendo de lo anterior, se utiliza la relación

$$B = B_r - H \quad (3-11)$$

La cual permite obtener una curva de desmagnetización con inducción magnética limitante. El resultado es una línea recta que une B_r y H_c , donde ambos puntos tienen el mismo valor numérico. La figura 14 permite identificar dichos valores, así como el máximo rectángulo que se puede inscribir bajo la línea recta; ese rectángulo hace referencia al límite máximo de la energía de magnetización de un imán permanente que es $B_r H_c / 4$, pero como $H_c = B_r$

$$BH_{max}(limite) = \frac{B_r^2}{4} \quad (3-12)$$

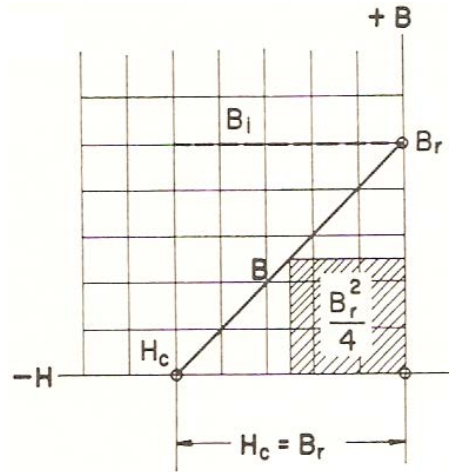


Figura 14. Límite ideal de la curva de desmagnetización, donde $H_c = B_r$ y el rectángulo inscrito bajo la línea que une ambos puntos se refiere al límite superior de la energía de magnetización de un imán permanente [Parker and Studders, 1962].

Por otro lado, la intensidad de campo magnético coercitivo está limitada por B_r , pero la intensidad de campo magnético coercitivo intrínseco no se restringe por esta condición. Se puede asumir que B_r se aproxima a la inducción magnética de saturación intrínseca B_{is} , por tanto (3-12) quedaría como

$$BH_{max}(limite) = \frac{B_{is}^2}{4} \quad (3-13)$$

En consecuencia, sólo se necesita conocer el valor de la inducción magnética de saturación intrínseca de un material para establecer las máximas capacidades de un imán permanente. En el caso particular de este trabajo es interesante el hecho de que con la ecuación (3-13), puesto que el fabricante entrega en la hoja de datos la energía de magnetización, entonces es posible encontrar la inducción magnética de saturación intrínseca y considerando su aproximación a la inducción magnética de remanencia se conseguirán valores de caracterización que define el comportamiento del imán permanente.

3.3 Reología

La Reología es la ciencia que estudia los principios físicos que regulan el movimiento de los fluidos³, incluyendo la deformación de un cuerpo sometido a esfuerzos externos y los flujos. Puesto que la finalidad de las partículas magnéticas es que sean inmersas en el cuerpo humano: cerebro, torrente sanguíneo, hígado, piel, riñones, etc.; es indispensable conocer las propiedades reológicas que gobernarán el comportamiento de éstas en biofluidos, órganos o sistemas del cuerpo humano.

La Reología no es una ciencia ajena a elementos "bio", ya que es extensamente empleada en la caracterización de alimentos o cosméticos como se puede ver en la Tabla III, que es un extracto de [Hill and Chabanis, 2011] y que muestra la relación entre la industria y diversos parámetros reológicos de importancia para la elaboración de productos.

Tabla III. Ejemplo de industrias que hacen uso de la Reología para sus productos [Hill and Chabanis, 2011].

Industria	Parámetros de análisis
Farmacéutica y cosméticos	Vida útil, percepción sensorial, límite de elasticidad, fuerza del gel, consistencia.
Alimentos	Percepción de textura, estabilidad de almacenaje, características de cocinado, procesamiento, extrusión, consistencia, extensibilidad.
Cerámicas	Estabilidad, porosidad, bombeo, rendimiento.
Petroquímicos	Formulación lubricante, perfiles temperatura-viscosidad para rendimiento de motor, capacidad de suspensión y bombeo.
Plásticos y polímeros	Eficiencia de moldeo, variaciones de extrusión, determinación del peso molecular, estabilidad dimensional, fuerza de impacto, temperatura de transición de vidrio.
Pinturas, tintas y recubrimientos	Salpicado del rodillo, atomización en aerosol, espesor de la película, densidad de color, definición y retención de puntos, flacidez, sedimentación de la pigmentación debida

³ <http://www.rae.es/rae.html>

	al almacenamiento.
Adhesivos	Tiempo de curado y punto de gelificación, características de adherencia y despegado, sensibilidad a la presión.
Asfalto	Rigidez de cubierta, fatiga, temperatura de rompimiento, pruebas de especificación SHRP.

Puesto que esta ciencia tiene su principal objetivo en el comportamiento de fluidos, a continuación se presentan las características generales de éstos.

3.3.1 Generalidades de los Fluidos

Un fluido se define como una sustancia que cambia su forma continuamente siempre que esté sometida a un esfuerzo cortante, sin importar qué tan pequeño sea. En dinámica de fluidos, los casos en los cuales la densidad puede tratarse como una constante involucran algo más que la naturaleza del fluido. En realidad, esto depende principalmente de un determinado parámetro de flujo (el número de Mach). Por consiguiente, se habla de flujos incompresibles y compresibles, en lugar de fluidos incompresibles o compresibles. Cuando en un problema las variaciones en la densidad son insignificantes, los gases y los líquidos se analizan de la misma manera.

Los fluidos están compuestos por moléculas con movimientos y colisiones constantes. Para ser exacto en un análisis, debería tenerse en cuenta la acción de cada molécula o grupo de moléculas en un flujo. Tales procedimientos se adoptan en la teoría cinética de los gases y en la mecánica estadística pero son, en general, demasiado complejos para utilizarlos en aplicaciones de ingeniería. En la mayor parte de los cálculos de ingeniería, el interés se centra en manifestaciones promedio medibles de muchas moléculas o átomos. Estas

manifestaciones pueden suponerse convenientemente como el resultado de una distribución continua hipotética de materia, conocida como el continuo, en lugar del conglomerado real complejo de las moléculas discretas. El concepto de continuo permite una gran simplificación en el análisis.

La Viscosidad es una propiedad de los fluidos y normalmente es una fuerza que se opone al movimiento de las Nanopartículas o partículas, de aquí la relevancia de su consideración. Para abordar el tema hay que distinguir entre dos clases de flujo: i) flujos externos, y ii) flujos internos. Los primeros son aquellos en los que las fronteras del flujo se encuentran comparativamente lejos del cuerpo, por ejemplo: flujos alrededor de alas, cohetes y barcos. Los segundos son flujos delimitados por fronteras, es decir, el flujo está contenido en dichas fronteras, por ejemplo: flujos en tuberías, ductos y boquillas. Una vez establecidas estas diferencias, el flujo con el que se tratará es interno, ya que estará delimitado por las paredes de las venas o arterias.

Al considerar el flujo interno hay que considerar el comportamiento de la capa límite. En una tubería, generalmente, la capa límite es muy delgada y por consecuencia el flujo en dicha región no es viscoso a excepción de la frontera. Sin embargo, a lo largo del flujo existe un aumento de espesor de dicha capa. En muchos flujos la capa límite puede ocupar con rapidez toda la sección transversal del mismo; cuando esto ocurre en las primeras etapas del flujo, se considera éste como completamente viscoso. Por lo tanto, el crecimiento de la capa límite es un criterio importante. Lo anterior se ve magnificado al considerar el flujo en un tubo capilar, en ellos casi siempre se considera un

medio completamente viscoso aun para fluidos con baja viscosidad y tuberías de pequeña longitud.

Otro factor influyente en la caracterización de los fluidos es el comportamiento que tienen. Se distinguen dos tipos principalmente como se enumeran a continuación:

- I. *Fluido Laminar*: Se define como un patrón bien ordenado donde se supone que las capas de fluido se deslizan una sobre la otra.
- II. *Fluido Turbulento*: Se observa en el momento que se da una transición desde el flujo anterior tipo laminar hacia un tipo de flujo inestable.

3.3.2 Flujos Newtonianos

Se distinguen porque pueden ser modelados con la Ley de viscosidad de Newton la cual, para un flujo bien ordenado (flujo laminar) en el que las partículas de fluido se mueven en líneas rectas y paralelas, dice: “para ciertos fluidos conocidos como fluidos newtonianos, el esfuerzo cortante sobre la interfaz tangente a la dirección del flujo es proporcional a la tasa de cambio de la velocidad con respecto a la distancia, donde la diferenciación se toma en una dirección normal a la interfaz”. Lo anterior sugiere entonces, que la viscosidad de dichos fluidos no depende de la velocidad de cizallamiento (shear rate), esto es, que a cualquier velocidad aplicada la viscosidad será la misma, pero sí hay una dependencia con el cambio de la temperatura.

3.3.3 Flujos No-Newtonianos

Este tipo de fluidos se caracterizan por depender del gradiente de velocidad. Se pueden identificar fluidos No-Newtonianos independientes y dependientes del tiempo. En los primeros la viscosidad depende de la temperatura y el gradiente de velocidad, en los segundos la dependencia de la viscosidad será con el gradiente de velocidad, la temperatura y el tiempo. En las Tablas IV y V, se muestra la clasificación de cada uno de ellos, sus características y algunos ejemplos.

Tabla IV. Tipos de fluidos No-Newtoniano independientes del tiempo, sus características y ejemplos [Quantotec, 2008].

Fluido	Condiciones	Ejemplos
Pseudoplásticos	La viscosidad disminuye cuando aumenta el gradiente de velocidad.	Pintura, Champú, Concentrado de zumo de frutas, polímeros, grasas, almidón, etc.
Dilatantes	La viscosidad aumenta cuando lo hace el gradiente de velocidad.	Arcillas, componentes para dulces, etc.
Plásticos	Únicamente empiezan a fluir después de aplicárseles una cierta fuerza.	Ketchup.

Tabla V. Tipos de fluidos No-Newtoniano dependientes del tiempo, sus características y ejemplos [Quantotec, 2008].

Fluido	Condiciones	Ejemplos
Tixotrópicos	La viscosidad disminuye con el tiempo mientras el fluido está sujeto a un gradiente constante. Vuelven a su viscosidad al dejar de aplicar el gradiente de velocidad.	Muy comunes en la industria alimentaria (yogurt, etc.)
Reopéticos	La viscosidad aumenta con el tiempo mientras el fluido está sujeto a un gradiente constante. Vuelven a su viscosidad al dejar de aplicar el gradiente de velocidad.	Sustancias poco comunes.

3.3.4 Dependencias de la Viscosidad

Como se ha expresado a lo largo de este apartado, la viscosidad tiene una atención especial ya que marca condiciones importantes en la búsqueda de los objetivos planteados del proyecto. Los principales factores que afectan a la viscosidad son:

- Temperatura
- Gradiente de Velocidad
- Condiciones de Medida
- Tiempo
- Historial de la Muestra
- Composición y Aditivos

Cada uno de ellos o un conjunto de los mismos, debe ser considerado cuando se desee analizar el comportamiento de la viscosidad de un fluido, dependiendo de ellos será el resultado obtenido de viscosidad o permitirá establecer criterios de interpretación de dicho resultado. Lo anterior está ligado a que si se está tratando con fluidos Newtonianos normalmente el resultado es un valor fijo, sin embargo si el fluido es No-Newtoniano tendrá un comportamiento dependiente de los factores antes mencionados y se obtendrá una curva de comportamiento. Aunado a lo anterior se debe considerar si los fluidos son dispersos o no dispersos, y dependiendo de eso la interpretación de los resultados variará.

Existen tres tipos de viscosidad: la viscosidad dinámica, la viscosidad cinemática y la viscosidad aparente. La viscosidad dinámica se define como la

pendiente en cada punto de la curva del esfuerzo cortante contra la velocidad de deformación. En cambio, la viscosidad aparente se define como el cociente entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación. Este término es el que se utiliza cuando se refiere a la “viscosidad” para fluidos no newtonianos. Por otro lado, la viscosidad cinemática relaciona la viscosidad dinámica con la densidad del fluido utilizado. Es importante diferenciar las viscosidades ya que, dependiendo de los equipos que se utilice se medirá un tipo u otro; por ejemplo, los reómetros miden usualmente la viscosidad dinámica y los viscosímetros la aparente. También hay que destacar que dependiendo de las intenciones de las mediciones hay que saber cuál es mejor para tales fines.

CAPÍTULO 4

4. Modelo Matemático

El modelo matemático para definir las fuerzas actuantes sobre las PMs proviene principalmente de [Holligan et al., 2003], [Pankhurst et al., 2003], [Kalambur et al., 2005] y [Barnes et al., 2007]. Todos ellos han utilizado los mismos principios físicos y matemáticos, e inclusive [Barnes et al., 2007] aportó al modelo matemático un concepto de porcentaje de material magnético de las partículas.

En este apartado se distinguen tres secciones: 1) las fuerzas actuando sobre las PMs, 2) análisis de fuerzas para encontrar una aproximación de la velocidad experimentada por las PMs, y 3) el modelo matemático y las condiciones para el diseño eficiente de sistemas de imanes permanentes.

4.1 Fuerzas actuando sobre las PMs

En esta sección se tratarán dos aspectos importantes acerca de la caracterización dinámica de PMs bajo la influencia de un Campo Magnético Estático (CME). Ambos casos son aproximaciones matemáticas de las fuerzas

que experimentan las PMs cuando son inmersas en un medio viscoso controlado. Cabe destacar que el movimiento de las PMs se puede representar por dos fenómenos: guiado y focalización. El primero hace referencia a cómo las PMs pueden ser manipuladas a través de un trayecto definido; y el segundo a cómo éstas pueden ser colocadas en un lugar específico de interés, ambos usando un campo magnético, ya sea estático o alterno, e inmersas en un medio viscoso controlado.

Entonces, para manipular eficientemente las PMs teniendo identificada la potencial aplicación biomédica, el campo magnético, en este caso estático, debe ser controlado considerando todas las fuerzas actuantes sobre las PMs. De acuerdo con [Pankhurst et al., 2003] y [Kalambur et al., 2005], existen dos fuerzas que afectan el movimiento de las PMs: la magnética y la de fricción. La fuerza de fricción (F_f) actúa en sentido opuesto a la fuerza magnética y se define como sigue,

$$F_f = v_{PM} r \quad (4-1)$$

en la cual, v_{PM} es la velocidad experimentada por las PMs, y r es un factor de proporcionalidad que se encuentra utilizando la Ley de Stokes y considerando la esfericidad de las PMs; de tal manera que

$$r = \frac{1}{6} \pi \eta a \quad (4-2)$$

Donde, η es la viscosidad del medio en el que están inmersas las PMs, y a el radio de las mismas. Sustituyendo (4-2) en (4-1) se obtiene

$$F_f = \frac{1}{6} \pi \eta a v_{PM} \quad (4-3)$$

La otra fuerza actuando sobre las PMs es la magnética (F_M), que proviene directamente de la fuente y que tendrá menor o mayor influencia sobre ellas dependiendo de las propiedades intrínsecas del material utilizado para fabricarlas. La fuerza magnética se representa por la ecuación (4-4), donde m es el momento magnético, ∇ el gradiente magnético y B representa la inducción magnética.

$$F_M = (m \cdot \nabla)B \quad (4-4)$$

De acuerdo con (4-4), el momento magnético será responsable de la dirección de las PMs, lo que significa que la interacción entre éstas y el CME será controlado por cada componente magnético m_x , m_y o m_z ; sin importar si en un análisis más personalizado se considera una de ellas o todas. Por otro lado, el momento magnético se define como el volumen de material magnético (V_m) multiplicado por la magnetización volumétrica (M), como se muestra en la ecuación (4-5).

$$m = V_m M \quad (4-5)$$

A su vez, la magnetización volumétrica se define de acuerdo a la ecuación (4-6),

$$M = \chi H \quad (4-6)$$

donde χ es la susceptibilidad magnética del material y H es la intensidad de campo magnético aplicado que se representa como sigue,

$$H = \frac{B}{\mu_0} \quad (4-7)$$

en la cual μ_0 es la permeabilidad en el espacio libre igual a $4\pi \times 10^{-7} [\text{T/mA}]$ y \mathbf{B} la inducción magnética. Sustituyendo (4-7) en (4-6), así como su resultado en (4-5), y todo ello en (4-4); se obtiene la ecuación (4-8).

$$F_M = \frac{V_m \chi}{\mu_0} (\mathbf{B} \cdot \nabla) \mathbf{B} \quad (4-8)$$

El producto punto se puede resolver aplicando $\nabla \times \mathbf{B} = \mathbf{0}$ sobre $\nabla(\mathbf{B} \cdot \mathbf{B}) = 2\mathbf{B} \times (\nabla \times \mathbf{B}) + 2(\mathbf{B} \cdot \nabla) \mathbf{B}$, donde el producto vectorial $(\nabla \times \mathbf{B}) = \mathbf{0}$, por tanto se puede resolver para $(\mathbf{B} \cdot \nabla) \mathbf{B}$ de $\nabla(\mathbf{B} \cdot \mathbf{B}) = 2(\mathbf{B} \cdot \nabla) \mathbf{B}$, obteniéndose la ecuación (4-9).

$$\mathbf{B}(\mathbf{B} \cdot \nabla) = \frac{\nabla(\mathbf{B} \cdot \mathbf{B})}{2} \quad (4-9)$$

Sustituyendo (4-9) en (4-8), se puede obtener una mejor aproximación de la fuerza magnética que actúa sobre las PMs como sigue:

$$F_M = \frac{V_m \chi}{2\mu_0} \nabla B^2 \quad (4-10)$$

2.2 Análisis de fuerzas sobre las PMs

En el estado del arte, el modelo matemático siempre se considera que está en equilibrio, sin embargo para los fines buscados en este trabajo no puede ser así ya que es necesario conocer el efecto de la gravedad y el peso para descartarlos y tener una mejor aproximación de la velocidad promedio alcanzada por las PMs. Dicho esto, entonces se tiene que

$$F_M - F_r = wg \quad (4-11)$$

Donde, w es la masa de PMs y g es la aceleración. Sustituyendo (4-3) y (4-10) en (4-11), se obtiene:

$$\frac{V_{PM}\chi}{2\mu_0} \nabla B^2 - 6\pi\eta a v_{PM} = wg \quad (4-12)$$

Despejando de (4-12) la velocidad que experimentarán las PMs queda,

$$v_{PM} = \frac{V_{PM}\chi \nabla B^2 - 2\mu_0 wg}{12\mu_0 \pi \eta a} \quad (4-13)$$

De (4-13) se puede destacar que:

- 1) La velocidad dependerá directamente del cuadrado de la inducción magnética que experimenten las PMs a lo largo del trayecto recorrido y que se agudizará conforme se acerquen a la fuente magnética.
- 2) El radio y la viscosidad del medio en el cual están inmersas las PMs tienen una influencia inversamente proporcional con la velocidad experimentada por las mismas.
- 3) el material con el que estén fabricadas las partículas magnéticas será el responsable de la interacción magnética con la fuente de CME.
- 4) Finalmente, el término $2\mu_0 wg$ permite minimizar el error en el cálculo de la velocidad promedio experimentada por las PMs.

Con la identificación de lo anterior es posible vislumbrar los compromisos que se adquirirán al momento del diseño y la fabricación de equipos para la manipulación de PMs.

4.3 Modelo de sistemas con imanes permanentes

Como se ha visto en la sección III.2, los imanes permanentes han sido estudiados ampliamente, lo que ha ido cambiando a lo largo del tiempo son los materiales para su fabricación desde aceros KS o MK, pasando por los alnicos en sus diferentes modalidades hasta llegar a las tierras raras como Samarium-Cobalto o Neodimio-Fierro-Boro. Las propiedades intrínsecas de los últimos dos materiales mencionados han dado lugar a nuevas posibilidades para su utilización. La figura 15 muestra la evolución que han tenido a través del tiempo materiales comúnmente empleados para la fabricación de imanes permanentes [Dexter, 2012]. Se observa que hasta la aparición de materiales de tierras raras se dio un salto exponencial en el producto energético BH, ofreciendo mejores prestaciones magnéticas por volumen, lo cual ha permitido desarrollos tecnológicos a escalas no convencionales.

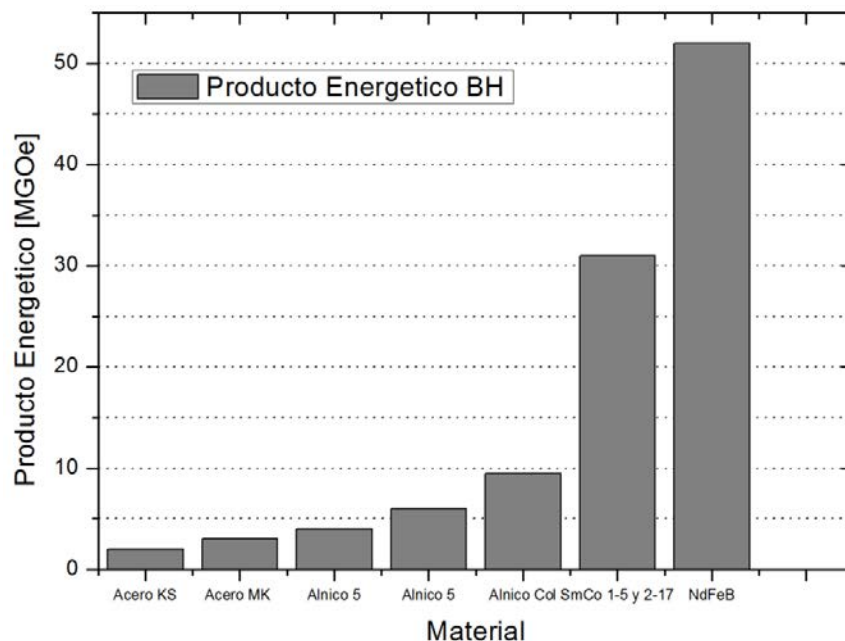


Figura 15. Evolución de los materiales usados para la fabricación de imanes permanentes con respecto a su producto energético BH [Dexter, 2012].

Por otro lado, la eficiencia en el diseño de sistemas compuestos por imanes permanentes dependen fuertemente del diseño de estos últimos, tal y como se evidencia en [Hatch and Stelter, 2001]. Además, hay que tener presentes los ocho axiomas que rigen dicho diseño y que se mencionan a continuación tomados de [Hatch and Stelter, 2001]:

- I. Las líneas de campo siempre seguirán la trayectoria de menor resistencia.
- II. Las líneas de flujo se repelen si su dirección de flujo son las mismas.
- III. Como corolario del axioma 2, las líneas de flujo nunca se cruzan.
- IV. Como corolario del axioma 1, las líneas de flujo siempre siguen la trayectoria más corta a través de cualquier medio.
- V. Las líneas de flujo siempre salen y entran de las superficies del material ferromagnético en ángulos rectos.
- VI. Todos los materiales ferromagnéticos tienen la habilidad limitada de llevar flujo.
- VII. Las líneas de flujo siempre viajan desde el más cercano polo positivo al más cercano polo negativo siguiendo una trayectoria que forma una curva cerrada.
- VIII. Los polos magnéticos no son unidades polares.

Aunado a lo anterior, de acuerdo con [Parker and Studders, 1962], las líneas de campo provenientes de un imán permanente son totalmente

dependientes de las geometrías de éstos. Este flujo de campo se relaciona directamente con la efectividad de la superficie de los polos, así como al área de los mismos. Usando la aproximación para encontrar la inducción magnética en una esfera, se considera la superficie de polo como la mitad de toda el área superficial del imán, mientras que el área del polo es el área de la cara final del imán; esto pierde validez cuando la longitud del imán es muy grande, que no es el caso de los diseños que se han realizado tanto en caracterización dinámica de PMs como en la aplicación biomédica potencial.

Entonces, de [Parker and Studders, 1962] sabemos que

$$B = \sqrt{\pi s} \frac{L_m}{A_m} H \quad (3-14)$$

donde L_m es la longitud del imán, A_m el área polar y s la superficie polar.

Haciendo uso de 3-14 y aplicando la Ley de Biot-Savart, que determina la contribución de campo magnético producido por un elemento a través del cual circula una corriente eléctrica; es posible encontrar la inducción magnética proveniente de un imán permanente delimitando su contribución con las medidas geométricas y conociendo la inducción residual del material de fabricación del imán. Siguiendo los pasos anteriores, para una geometría cilíndrica como la mostrada en la figura 16, se obtiene una inducción magnética en un punto P a una distancia d del imán.

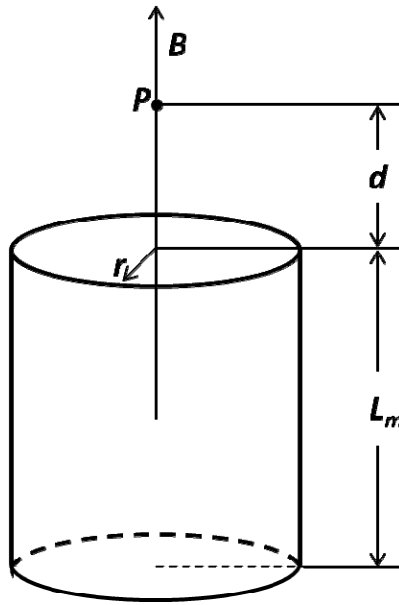


Figura 16. Se muestran las características geométricas a considerar para encontrar la inducción magnética proveniente del imán de longitud L_m en un punto P a una distancia d de la cara polar de radio r .

Teniendo presentes las características geométricas del imán permanente mostrado en la figura 16, se obtiene que:

$$B = \frac{B_r}{2} \left[\frac{d+L_m}{\sqrt{(d+L_m)^2+r^2}} - \frac{d}{\sqrt{d^2+r^2}} \right] \quad (4-15)$$

Donde, B_r es la inducción magnética de remanencia, d la distancia que hay entre la cara polar y el punto P , L_m la longitud del imán y r el radio de la cara polar del imán.

CAPÍTULO 5

5. Resultados de la caracterización dinámica de partículas magnéticas

5.1 Consideraciones importantes

Para conseguir un entendimiento de los fenómenos involucrados en el movimiento de las PMs, así como de las dependencias de los materiales utilizados para fabricar las PMs con respecto a variables magnéticas y dinámicas, se aplicaron los modelos matemáticos expuestos en la sección anterior para aproximar los comportamientos; posteriormente se realizaron experimentos en el laboratorio para la demostración de los mismos.

El escenario propuesto se presenta en la figura 17, en ella se observa cómo un clúster de PMs es colocado por la parte superior del un tubo de ensaye haciendo uso de una pipeta de precisión, y en la parte inferior se coloca la fuente de CME.

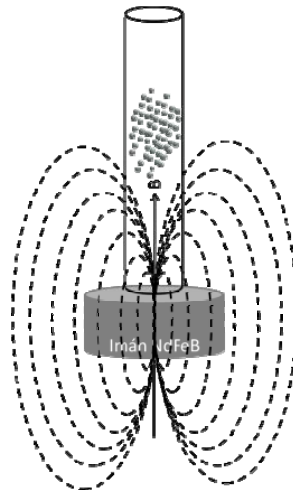


Figura 17. Escenario propuesto para simulaciones y montaje de experimentos *in vitro*.

5.1.1 Materiales y método seguido para la simulación

Además de los modelos matemáticos expuestos en el Capítulo IV implementados en Matlab 2009b, se utilizó el software comercial Maxwell3D v11.1. Este software se emplea para el diseño y análisis de campos electromagnéticos y equipos electromecánicos. Además, favorece el análisis en superficie y en el espacio de la distribución de campos magnéticos provenientes de una fuente alimentada con corriente alterna o por materiales de magnetización permanente. Su gran versatilidad se logra al tener incorporado un módulo de solución de elementos finitos que permite alcanzar altas resoluciones en sistemas que involucren flujos. Puesto que las herramientas de diseño 3D utilizan muchos procesos computacionales se utilizó un ordenador con procesador Intel(R) Core(TM)2 Quad CPU Q9400 con 2.66 GHz y 2.67 GHz, Memoria RAM de 4 GB y Sistema Operativo Windows 7 Ultimate de 64 bits; suficiente para tener un rendimiento óptimo del ordenador al momento de realizar las simulaciones pertinentes.

La metodología seguida fue:

- 1) Incorporación de los modelos matemáticos en Matlab2009b.
- 2) Simulación de la fuente de CME, tanto en Matlab2009b como en Maxwell3D v11.1.
- 3) Análisis de las dependencias magnéticas y dinámicas de la fuerza magnética proporcionada por la fuente de CME con Matlab2009b.
- 4) Análisis de la distribución de las líneas de CME en Maxwell3D v11.1 en el espacio y en el plano.
- 5) Comparación entre ambos programas para validar los resultados obtenidos.
- 6) Análisis de resultados y conclusiones.

El objetivo de estas simulaciones estuvo orientado al análisis de dependencias magnéticas, distribución del CME en 3D para intuir el comportamiento de las PMs, y finalmente la aproximación a la velocidad promedio de las PMs cuando son afectadas por un CME sobre el eje Z.

5.1.2 Materiales y método seguido en la experimentación *in vitro*

Para realizar los experimentos *in vitro* se diseñó y construyó un recinto experimental que permite aislar las muestras de posibles interferencias y al mismo tiempo no produce ruido magnético en el interior del mismo. La figura 18 muestra en a) el diseño del recinto y en b) una fotografía de cómo quedó al ser construido.

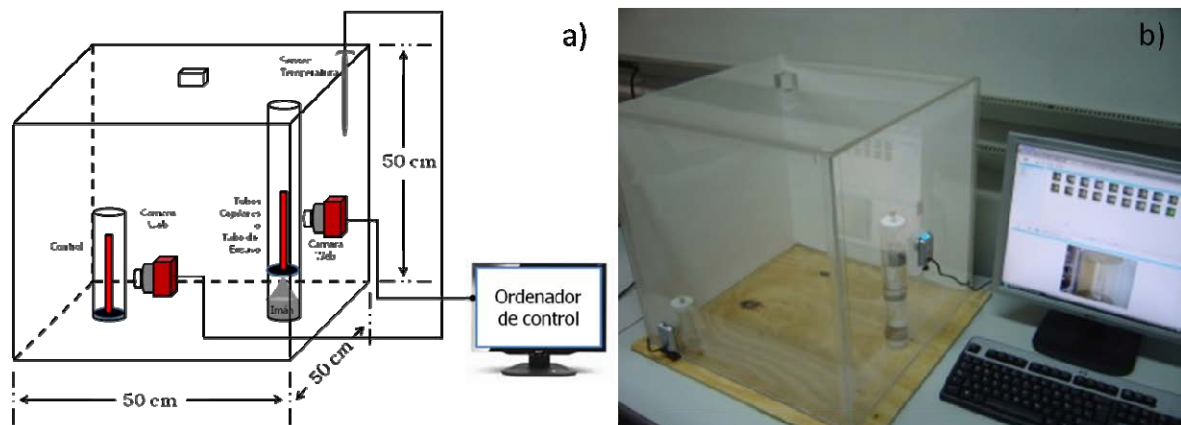


Figura 18. Recinto de experimentación para la caracterización dinámica de partículas magnéticas, en a) el diseño hecho y en b) una fotografía de cómo quedó al ser construido.

En el recinto es posible colocar dos zonas de experimentación de acuerdo con la figura 19: en a) la zona de control y en b) la zona activa. Ambas zonas se construyeron utilizando cilindros huecos de metacrilato, la diferencia entre ambas es el tamaño de cilindro como se puede ver en la figura 19. Esta diferencia está relacionada a lo que cada zona debe contener, puesto que la zona de control está diseñada para no aplicar ningún CME, basta con que se pueda colocar el tubo de ensayo dentro del cilindro. En el caso de la zona activa, es necesario colocar la fuente magnética así como las geometrías auxiliares para focalizar el CME. Así mismo, debe ser posible colocar la fuente de campo magnético a distancias específicas de donde se colocan las PMs para poder evaluar el movimiento que han sufrido éstas debido a la fuerza magnética aplicada. Además, cada zona experimental tiene un sistema de monitoreo que permite obtener video y/o imagen para el análisis posterior, éste se observa también en la figura 19 para cada una de las zonas experimentales y está compuesto por dos cámaras web de alta resolución SPC 1300NC.

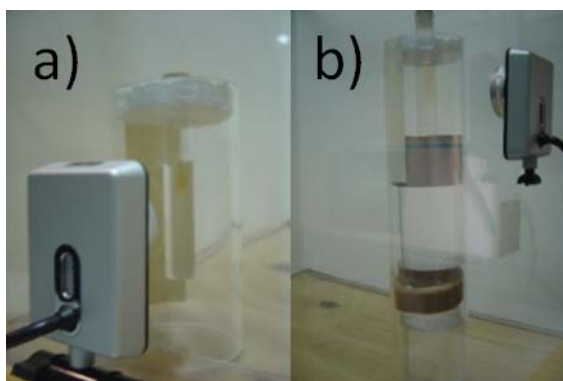


Figura 19. Zonas de experimentación en el recinto de metacrilato. En a) la zona de control y en b) la zona activa; ambas con su sistema de monitoreo.

Para la fuente de CME en la zona activa se utilizó un imán de tierras raras de NdFeB con 45 mm de diámetro y una altura de 30 mm, cuyas características principales se muestran en la tabla VI.

Tabla VI. Características principales del imán de NdFeB utilizado en la experimentación in vitro.

Modelo	S-45-30-N
Máxima Energía Magnética (BH_{max})	45 [MGO]
Inducción Residual (B_r)	12,5 [kG]
Coercitividad (H_c)	11,3 [kOe]
Temperatura Máxima de Operación	80°C
Recubrimiento	Ni-Cu-Ni

Este tipo de imanes forman parte de la última generación de imanes, ya que son capaces de mantener la magnetización por largos periodos de tiempo y producen una gran fuerza magnética por unidad de volumen en comparación con otro tipo de materiales. Por otro lado, para la focalización del CME se utilizó un cono de Fe con diámetro inferior y altura similares a las del imán de NdFeB para su acoplamiento de acuerdo con la figura 20, en la que se muestra cómo queda ensamblado el arreglo imán-cono.



Figura 20. Modo de acoplamiento entre el Cono de Hierro y el Imán de NdFeB.

Por otro lado, para los experimentos se escogieron tres tipos de partículas magnéticas teniendo en consideración: 1) cubrir un amplio rango de diámetros, y 2) visibles para su localización empleando video y/o imagen. Con tales fines, en la tabla VII se muestran las características principales de acuerdo con los requerimientos solicitados de las partículas magnéticas.

Tabla VII. Características principales de las PMs empleadas en la experimentación.

Diámetro	Núcleo	Recubrimiento
8 μm	Cobalto	No
1.31 μm	Poliestireno	Oxido Ferroso/Avidin
50 nm	Poliestireno	Óxido Ferroso/Avidin

Finalmente, el medio en el cual las PMs serían inmersas debe tener una viscosidad controlada, para ello se hizo uso de un coloide a base de Agar-Agar, que permite la manipulación de dicha variable. Lo anterior con la finalidad de comprobar la dependencia con la viscosidad del movimiento de las PMs. Para la fabricación del coloide se hicieron uso de equipos del laboratorio como: Agitador Magnético, Baño Termostático, Balanza de Precisión y Vasos de Precipitado.

Cuando se induce un CME, algún tipo de interacción entre éste y las PMs se podría suponer. Sin embargo, se suscita imperativo observar los fenómenos

que hasta el momento únicamente se había aproximado matemáticamente. El avance acelerado de las tecnologías de adquisición de video y/o imágenes permite hoy día capturar casi cualquier movimiento por muy rápido que éste sea. Para lograr la observación de la interacción magnética entre las PMs y un CME se siguió la siguiente metodología:

- 1) Fabricación del medio viscoso.
- 2) Medición de la viscosidad del medio viscoso.
- 3) Se rellenan los tubos de ensaye hasta completar 4 cm de altura, equivalente a introducir 5 ml del medio viscoso.
- 4) En la zona de control se coloca el tubo de ensaye con la cantidad de medio viscoso mencionada en el punto anterior y se introducen 5 μ l de PMs, dejándose caer libremente sin la influencia de un CME. Este paso se repite tantas veces como PMs se hayan seleccionado para el estudio.
- 5) En la zona activa se coloca el tubo de ensaye con la cantidad de medio viscoso estipulada en el punto 3 y haciendo contacto con la base del tubo de ensaye se coloca la fuente magnética, ya sea focalizada o no. Se insertan 5 μ l de PMs y se repite este paso tantas veces como PMs se hayan considerado previamente para el estudio.
- 6) Tanto en la zona activa como la de control se utiliza el sistema de monitoreo para la adquisición de una base de datos en video y/o imagen para su posterior análisis.

- 7) Finalmente se procede al análisis de los videos y/o imágenes obtenidas para la evaluación correspondiente del comportamiento dinámico de las PMs seleccionadas.

En el presente estudio se realizaron tres controles, uno por cada tipo de partícula magnética mostrada en la tabla VII. De manera similar se procedió con la inserción de las PMs en la zona activa bajo la influencia de un CME pero repitiendo tres veces la inserción de cada una de las PMs consideradas para el estudio, haciendo un total de 9 experimentos en la zona activa. Además, esto mismo se realizó tanto para la aplicación de un CME focalizado como sin focalizar. Lo anterior tuvo la finalidad de comprobar la aparición de algún fenómeno magnético no convencional que pudiera ser de interés para la comunidad investigadora en ingeniería biomédica o cualquier otra rama, así como la comparación de las interacciones magnéticas existentes a la aplicación de un CME focalizado o sin focalizar.

5.2 Análisis de dependencias magnéticas

La fuerza magnética que actuará sobre el volumen total de PMs está definida de acuerdo con la ecuación 4-10. De ella se puede extraer que su mayor dependencia está relacionada con el cuadrado de la inducción magnética que experimentarán. Sin embargo, también tiene un involucramiento importante la susceptibilidad del material empleado para la fabricación de las PMs y el volumen de material activo. El material activo hace referencia a que las PMs suelen tener un núcleo de material ferroso y un recubrimiento de

materiales biofuncionales, estos últimos cuando se aplica un CME no aportan ninguna interacción con la fuente magnética. Por tanto, la fuerza tendrá tres principales variables de interés: la inducción magnética proveniente de la fuente de CME, la susceptibilidad magnética del material y el volumen de material activo en la muestra.

5.2.1 Dependencia de la fuerza con la inducción magnética

De acuerdo con lo descrito en la sección IV.3, la inducción magnética proveniente de la fuente de CME es dependiente en imanes permanentes sólo de la morfología del imán y la inducción magnética de remanencia del material utilizado en su fabricación. Entonces, de acuerdo con la ecuación 4-15 se puede encontrar la inducción magnética resultante a lo largo del eje central del cilindro con respecto a la calidad del material magnético que está en relación directa con la energía por unidad de volumen del imán y su tolerancia térmica. La figura 21 muestra la variación de la inducción magnética desde 0 hasta 100 mm de la cara polar del imán descrito en la tabla VI en función de su grado energético, que puede variar desde N30 hasta N52. Se observa que la diferencia en la eficiencia energética entre el máximo y el mínimo posibles (N52 y N30, respectivamente) pasa de ser de 130 mT en 0 mm a 50 mT a 100 mm, con una razón de cambio de 0.8 mT/mm aproximadamente. Lo anterior nos dejaría un margen de 80 mT para controlar la fuente de CME que será dependiente del uso que se le desee dar. El análisis de esta dependencia

permite conocer a priori, de manera aproximada, el comportamiento de la fuente de CME si escogemos una mejor o peor calidad de material magnético.

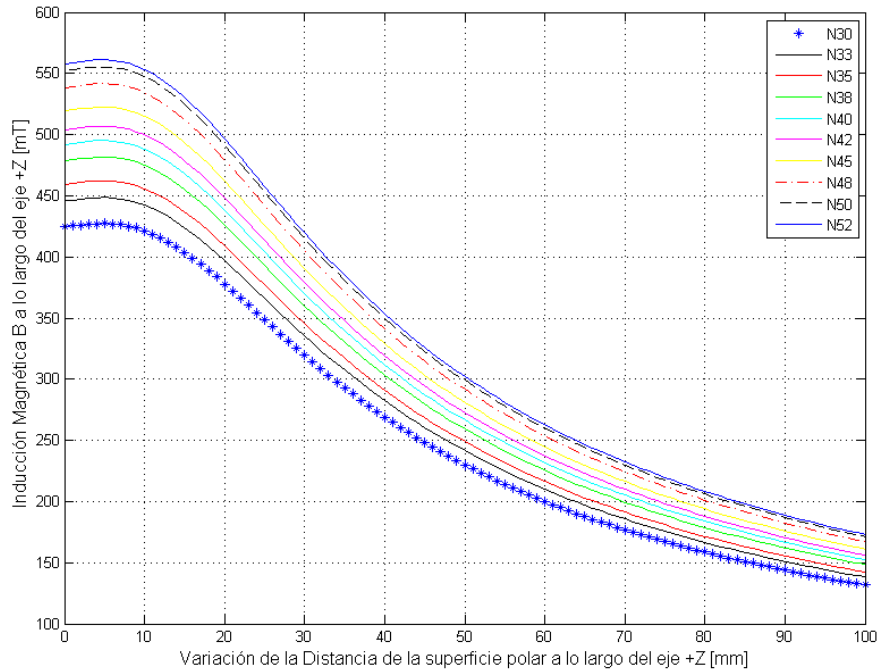


Figura 21. Variación de la inducción magnética proveniente de la fuente a lo largo de 100 mm desde la cara polar considerando diferentes magnitudes de energía magnética.

Lo anterior a su vez, permite hacer un análisis de la fuerza que experimentaran las PMs dependiendo de la inducción magnética proveniente de la fuente, y que se muestra en la figura 22. En ella podemos observar que el comportamiento es de una función exponencial decreciente idéntica a la variación de la inducción magnética mostrada en la figura 21, lo cual es un indicativo de que la variable que rige el comportamiento de las PMs es ***B***. Para esta simulación se consideró que las partículas contienen maghemita (puesto que es el material ferroso que más se emplea en la fabricación de PMs), que tiene una susceptibilidad de 1.5×10^{-5} y una densidad de $4.6 \times 10^6 \text{ mg/m}^3$ [Rosenzweig, 2002].

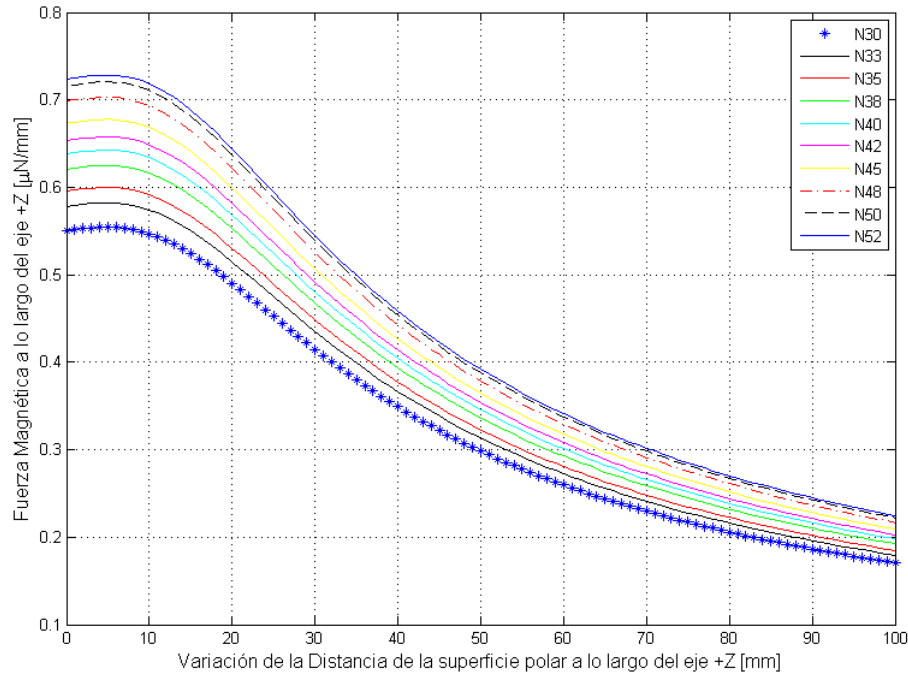


Figura 22. Variación de la fuerza experimentada por las PMs por la inducción magnética proveniente de la fuente a lo largo de 100 mm desde la cara polar considerando diferentes magnitudes de energía magnética.

5.2.2 Dependencia de la fuerza con la susceptibilidad magnética

Por otro lado, la fuerza experimentada por las PMs también está en función de la susceptibilidad del material utilizado para su fabricación tal y como se puede verificar en la ecuación 4-10, en ella la dependencia se observa directamente proporcional, es decir, conforme aumenta la susceptibilidad magnética lo hace también la fuerza experimentada por las PMs. La figura 23 presenta una serie de gráficas que expresan la variación de la fuerza experimentada por las PMs con respecto al cambio de la susceptibilidad magnética del material con el que han sido fabricadas a diferentes distancias de la cara polar de la fuente; dicha variación va desde 1×10^{-6} hasta 1×10^{-4} , que es un rango donde están incluidos los valores típicos de los materiales ferrosos.

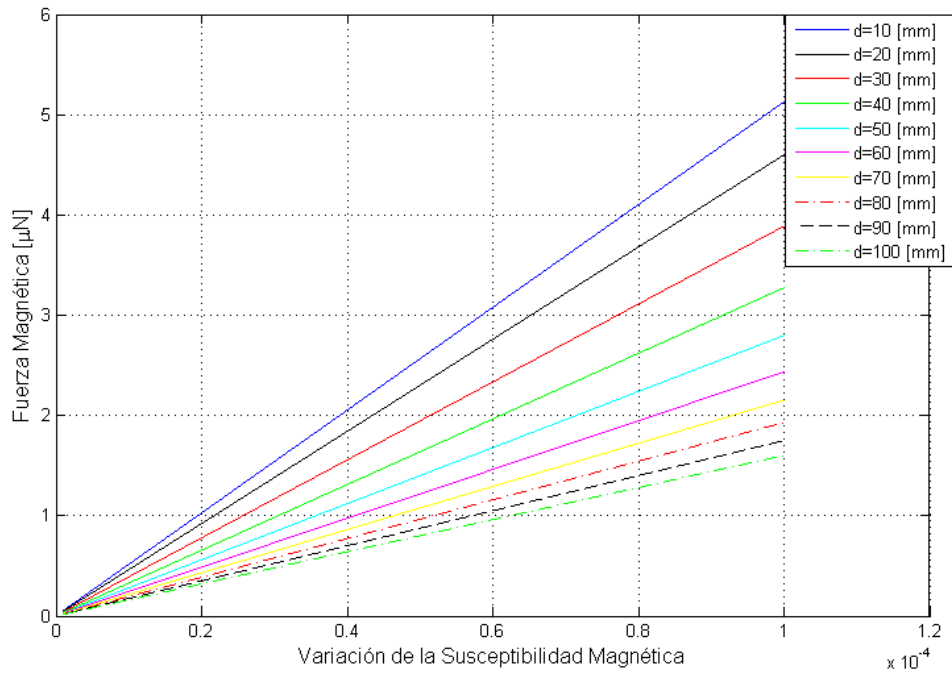


Figura 23. Variación de la fuerza con respecto a la variación de la susceptibilidad magnética del material cada 10 mm desde la cara polar de la fuente magnética.

5.2.3 Dependencia de la fuerza con el volumen de material

De manera similar a la sección anterior, el volumen de material magnético involucrado en la interacción magnética entre éste y la fuente. Se intuye que será directamente proporcional de acuerdo con la ecuación 4-10, y para corroborarlo se presenta la figura 24. En ella se observa la variación de la fuerza experimentada por las PMs respecto a la variación del volumen de material magnético a diferentes distancias de la cara polar, el rango propuesto es de 0.1 μg hasta 1 mg, en él se encuentran las cantidades en masa de material utilizado más usualmente. Así mismo, se considera que el material utilizado es maghemita.

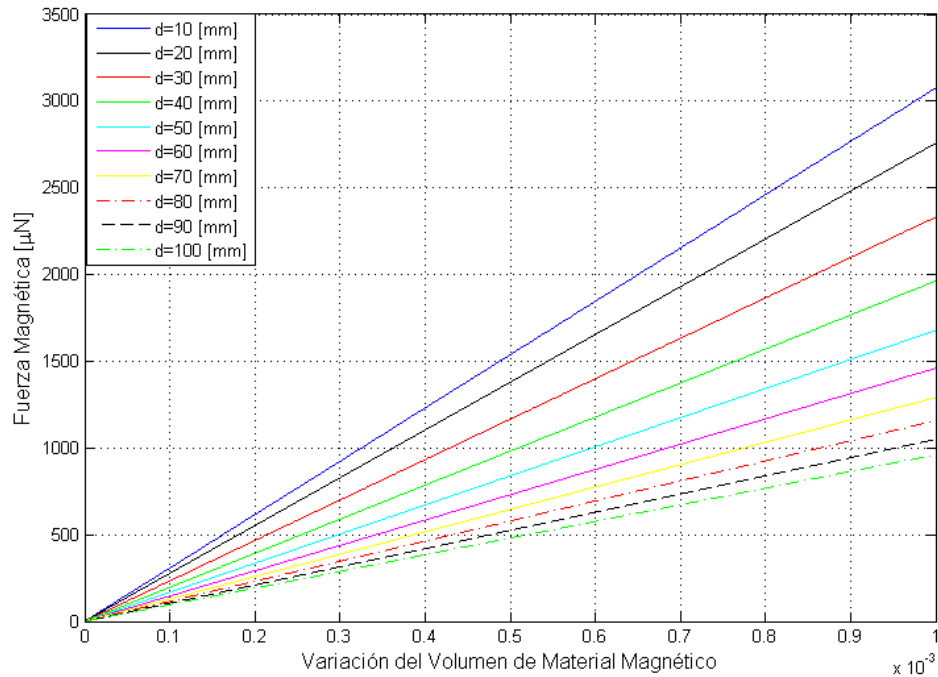


Figura 24. Variación de la fuerza con respecto a la variación del volumen de material magnético cada 10 mm desde la cara polar de la fuente magnética.

Las gráficas anteriores tienen como fin mostrar cómo evoluciona la fuerza experimentada por las PMs en función de tres variables: la inducción magnética de la fuente, la susceptibilidad magnética del material y el volumen de material utilizado. Entonces se pueden aprovechar los modelos matemáticos presentados en el Capítulo IV para hacer una aproximación de las propiedades que deberían tener las partículas para ejercer una determinada fuerza por unidad de longitud, es decir, se puede encontrar el punto idóneo para obtener una fuerza concreta en una distancia específica, e intuir de manera aproximada cuál será la fuerza proporcionada por ese volumen de material en dicho punto. Por ejemplo, si sé que mi material magnético de fabricación tiene una susceptibilidad de 1.5×10^{-5} y el imán disponible es de NdFeB con una energía de magnetización de 52 MGOe (45 mm de diámetro por 30 mm de alto);

entonces haciendo uso del software de simulación se puede saber la cantidad de material ferroso necesaria para ejercer tal fuerza.

5.3 Velocidad experimentada por las PMs

5.3.1 Dependencias de la velocidad experimentada por las PMs

De acuerdo con lo expuesto en el apartado IV.2, la velocidad será dependiente del cuadrado de la inducción magnética consecuencia de la fuente utilizada, así como de la susceptibilidad del material y el volumen del mismo; todo ello variará de acuerdo con las dependencias mostradas en la sección V.2 para la fuerza que experimentarán las PMs. Puesto que la velocidad promedio experimentada por el volumen de PMs proviene del análisis de fuerzas que las afectarán, aparecen dos variables más de las cuales dependerá; éstas son: la viscosidad del medio en el cual están inmersas y el radio de las partículas.

Para observar la dependencia de la velocidad con la viscosidad del medio se presenta la figura 25, en la cual podemos observar la variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto a la variación de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando 10 valores diferentes de la viscosidad del medio en el cual están inmersas. Se observa que conforme la viscosidad aumenta el comportamiento de la velocidad se va desplazando hacia valores del orden de decenas de micrómetros, es decir, disminuye inversamente proporcional a la viscosidad.

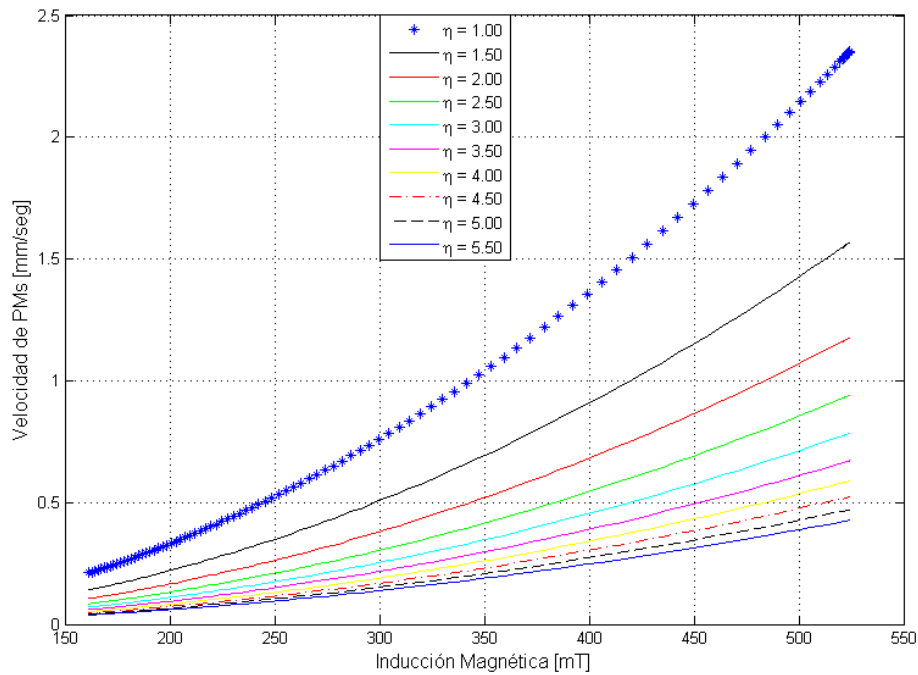


Figura 25. Variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto al cambio de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando 10 valores diferentes de la viscosidad del medio en el cual están inmersas.

De la misma manera, las figura 26 y 27 muestran la variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto a la variación de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando: en la primera de ellas un rango entre 50 nm y 1.050 μm de radio y en la segunda un rango entre 1 y 10 μm . Se observa que conforme el radio de las partículas se acerca a milímetros su velocidad se reduce a unas pocas micras por segundo, su variación por tanto es inversamente proporcional.

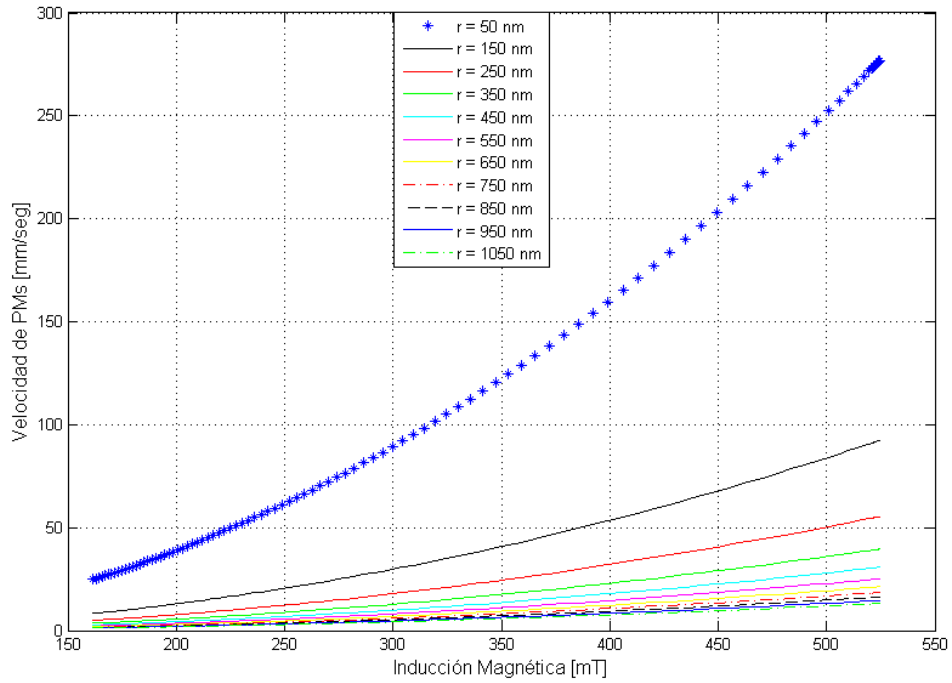


Figura 26. Variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto al cambio de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando un rango entre 50 nm y 1.050 μm de radio.

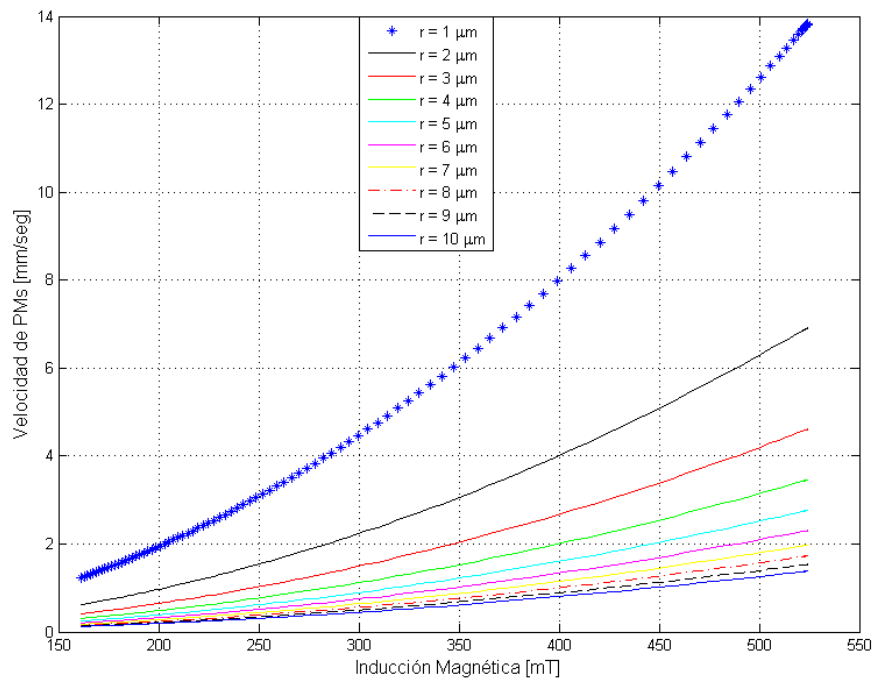


Figura 27. Variación de la velocidad experimentada por las PMs con respecto al cambio de la inducción magnética procedente de la fuente sobre el eje Z y considerando un rango entre 1 y 10 μm de radio.

Ambas variables, puesto que vienen de la consideración de la fuerza de fricción, están íntimamente relacionadas con la oposición que sufrirán las PMs a su movimiento; por esta razón cuando sus valores son elevados la velocidad se disminuye así como la forma de moverse a través del medio, ya que a niveles nanométricos las propiedades moleculares del medio donde están inmersas toman relevancia, tal y como se analizará en la siguiente sección V.4.

Para finalizar, en el laboratorio se ha iniciado el prototipado de un dispositivo capaz de mostrar el comportamiento de las PMs en respuesta a un CME, sin focalizar y focalizado, empleando diversas geometrías auxiliares. Asimismo se plantea la posibilidad de mostrar características de interés en tiempo real al usuario para ayudar en la búsqueda de nuevas soluciones biomédicas. Todo ello ha sido montado en el mismo recinto de experimentación descrito en la sección de materiales, adecuándolo para que la captura de video sea la óptima. La figura 28 muestra en a) y en b) dos capturas diferentes del movimiento de PMs utilizando el software en tiempo real; de izquierda a derecha las imágenes corresponden a: el video original, la eliminación de redundancia y la aplicación de filtros de contraste. Se observa en ellas que la utilización de diversos filtros y algoritmos de manipulación en tiempo real, ayudan a la caracterización del movimiento experimentado por las PMs en respuesta de un campo magnético. Además, con la optimización de los modelos matemáticos expuestos anteriormente se puede lograr una herramienta poderosa de caracterización dinámica.

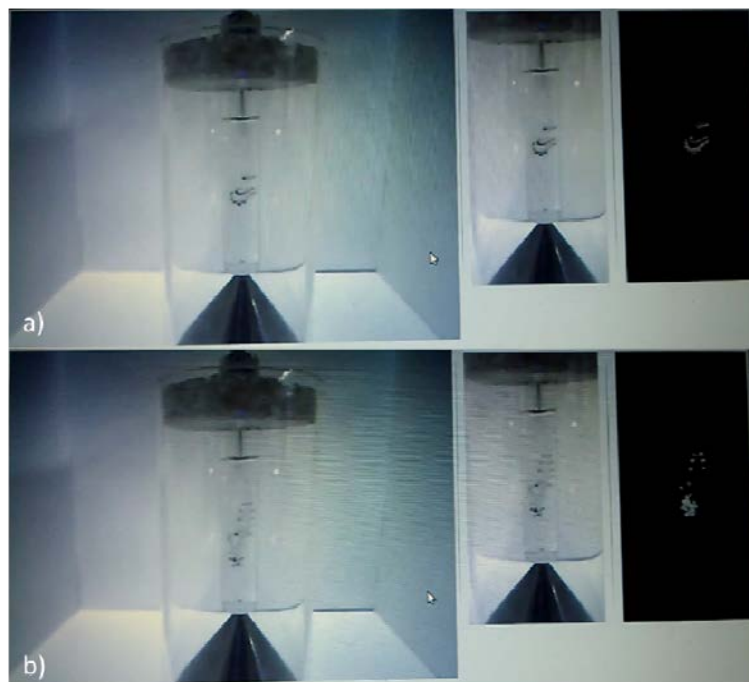


Figura 28. Capturas del movimiento de PMs en respuesta a un CME focalizado tanto en a) como en b). De izquierda a derecha las imágenes en cada inciso corresponde a: el video original, la eliminación de redundancia y la aplicación de filtros de contraste.

5.4 Caracterización del movimiento de las PMs *In vitro* y sus fenómenos no convencionales

A continuación se presentan los resultados *In vitro* en relación a la caracterización del movimiento de las PMs en medios controlados. Los objetivos estaban dirigidos a la demostración experimental de la teoría, la identificación de fenómenos que pudiesen ser utilizables en aplicaciones biomédicas y su validación.

De acuerdo con el Estado del Arte en relación con el guiado y la focalización de PMs, así como con el análisis expuesto en la sección anterior; se ha comprobado que el movimiento y la velocidad de las PMs depende de tres variables principalmente: 1) el radio de las PMs, 2) la inducción magnética aplicada y 3) la viscosidad del medio. Después de haber seguido la metodología

y utilizado los materiales presentados en la sección V.1.2, los resultados y observaciones del movimiento de las PMs en un medio controlado se presentan a continuación.

La figura 29 muestra los tres controles hechos para cada una de las PMs consideradas en el estudio: en a) 8 μm , b) 1.31 μm , y c) 50 nm. Se observa que las PMs se difunden aleatoriamente a través del medio viscoso controlado, con $\eta=1.35 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, y nunca alcanzan a depositarse en el fondo del tubo de ensaye, esto se debe a que no hay ninguna fuerza externa que venza la fuerza de fricción. Además, las PMs cuando terminan de moverse su ubicación no es controlable. Por otro lado, también se identifica que las partículas de 8 μm se encuentran menos dispersas en el medio viscoso y a 2 cm aproximadamente de la base del tubo de ensaye. Por otro lado, en las PMs con diámetro de 1.31 μm se observa que su difusión es más homogénea a lo largo del trayecto comparativamente con los otros dos tipos de partículas, y se han detenido aproximadamente a 1.5 cm del fondo del tubo de ensaye. En el caso de las PMs de diámetro igual a 50 nm, se observa una dispersión total a lo largo del tubo de ensaye, quedando cúmulos de ellas inclusive a 3 cm por encima de la base del tubo de ensaye y que se dispersan hasta alcanzar 1 cm aproximadamente del fondo. Lo anterior se debe a que mientras más pequeño sea el diámetro de las PMs éstas pueden introducirse más fácilmente entre las estructuras moleculares del medio viscoso, pudiendo moverse a través de éste. Así mismo, el diámetro de las PMs también está relacionado con la fuerza contraria al movimiento que experimentarán, a mayor diámetro la fuerza de fricción

experimentada aumentará, haciendo que las PMs con mayor diámetro se coloquen a una mayor altura con respecto del fondo del tubo de ensaye.

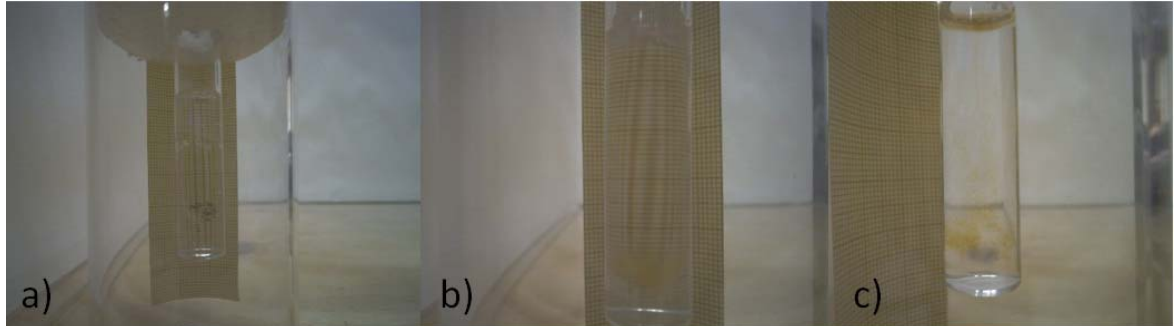


Figura 29. Muestras de control para cada una de las PMs seleccionadas en el estudio: en a) 8 μm , b) 1.31 μm , y c) 50 nm.

Una vez comprobado que las PMs nunca llegan a tocar el fondo de los tubos de ensaye, se procedió a su comparación con la aplicación de un CME sin focalizar y focalizado para cada una de las partículas de estudio. Las figuras 30, 31 y 32 muestran la comparación entre la aplicación de un CME: en a) sin focalizar, y en b) focalizado; para las PMs de 8 μm , 1.31 μm y 50 nm, respectivamente; y corresponden a la repetición 2 de cada serie hecha para cada tipo de partícula magnética utilizada.

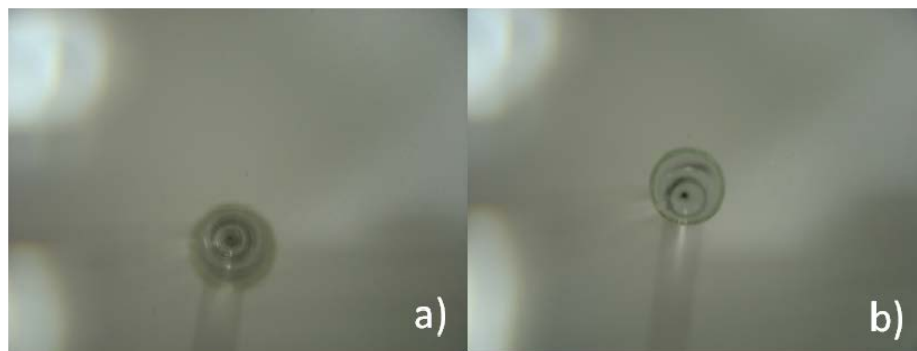


Figura 30. Comparación de la segunda repetición hecha para PMs de 8 μm con un CME en a) sin focalizar, y en b) focalizado.

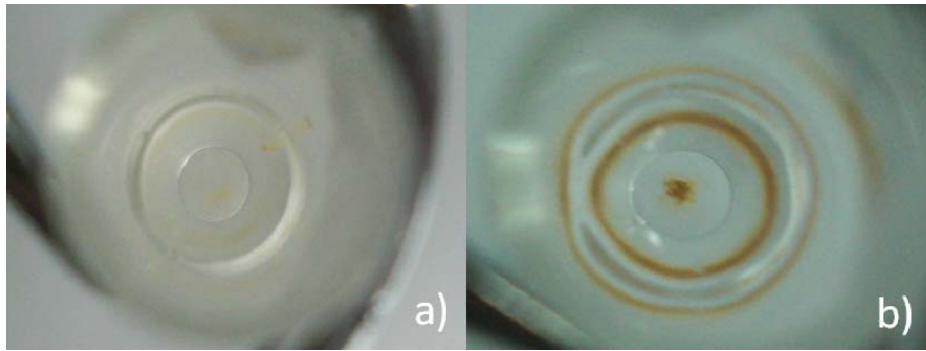


Figura 31. Comparación de la segunda repetición hecha para PMs de $1.31\mu\text{m}$ con un CME en a) sin focalizar, y en b) focalizado.

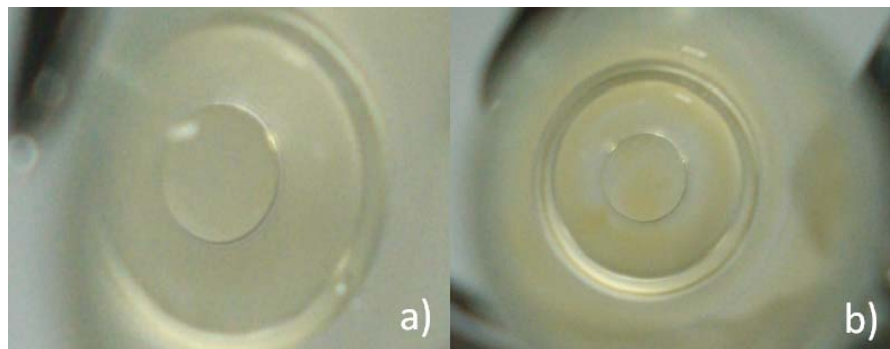


Figura 32. Comparación de la segunda repetición hecha para PMs de 50 nm con un CME en a) sin focalizar, y en b) focalizado.

En ellas se observa que para todos los casos donde se aplicó un CME sin focalizar las PMs se han depositado al fondo del tubo de ensayo sobre toda la superficie de contacto con la fuente magnética, pero en las PMs de $8\mu\text{m}$ se alcanzan a distinguir dos aglomeraciones: una al centro del fondo y otra formando un anillo en la periferia; esto se debe a que las partículas con un diámetro grande contendrán un mayor volumen de material magnético y en consecuencia reaccionan fácilmente al CME. Por otro lado, en los que se aplicó un CME focalizado se observa que las PMs se depositan igualmente al fondo de los tubos de ensayo pero formando una aglomeración en la punta del cono y círculos concéntricos. Este resultado se atribuye en primera instancia a que las líneas de campo son modificadas por el cono y tiene su mayor gradiente en la punta del mismo, sin embargo existen zonas activas sobre toda su superficie

con un gradiente magnético menor que interactúan con PMs de diámetro grande; esto es posible puesto que el valor del diámetro que se obtiene de fábrica es la media de los diámetros de todas las partículas disueltas, normalmente es una función de distribución gaussiana, y por tanto habrá partículas con diámetro por encima y por debajo de este valor.

Por otro lado, se encontró que conforme el diámetro de la partícula disminuye su manipulación resulta menos eficiente, esto se observa mejor en los casos que se aplica un CME focalizado, en los cuales se identifica que los círculos concéntricos están menos definidos en el caso de PMs de 50 nm comparativamente con las PMs de 8 μm . Finalmente se destaca de manera general que en todos los casos hubo la influencia de una fuerza magnética capaz de superar la fuerza de fricción y hacer que las PMs lleguen al fondo de los tubos de ensayo.

Durante los mismos 9 experimentos, se encontró un fenómeno de auto-organización de las PMs en respuesta a un CME focalizado en la primera mitad del trayecto que recorren. Este fenómeno no se ha visto publicado y resulta interesante tanto desde el punto de vista de la física como de aplicabilidad. Dicho fenómeno consiste en la formación de varios cúmulos (clústeres) de PMs durante la primera mitad del trayecto que recorren, y que es dependiente de las líneas de campo focalizadas, el diámetro de las PMs y la velocidad de salida del dispensador con el que se insertan las PMs. Para tratar el tema se presenta la figura 33, que es una comparación entre los experimentos realizados con un CME sin focalizar en: a) 8 μm , b) 1.31 μm y c) 50 nm; y focalizado en: d) 8 μm ,

e) $1.31\ \mu\text{m}$ y f) $50\ \text{nm}$. Se observa que en los experimentos con un CME sin focalizar (incisos a, b y c) las PMs se precipitan hacia el fondo de los tubos de ensaye y se depositan en toda la superficie que está en contacto con la fuente magnética; sin embargo, en aquellos realizados con un CME focalizado se observa la formación de clústeres durante el trayecto hacia el fondo de los tubos de ensaye y que desaparecen conforme se acercan a la superficie inferior que está en contacto con la fuente magnética; esto da fundamento a la dependencia del fenómeno de auto-organización con las líneas de campo magnético, es decir, que dependiendo de la geometría utilizada para focalizar el CME las PMs tenderán a formar los clústeres o no. Por otro lado, está íntimamente relacionado con el diámetro de las PMs, por eso aquellas con un diámetro mayor interaccionan más fácilmente con todas las líneas de campo en el espacio, formando clústeres más compactos que con diámetros pequeños.

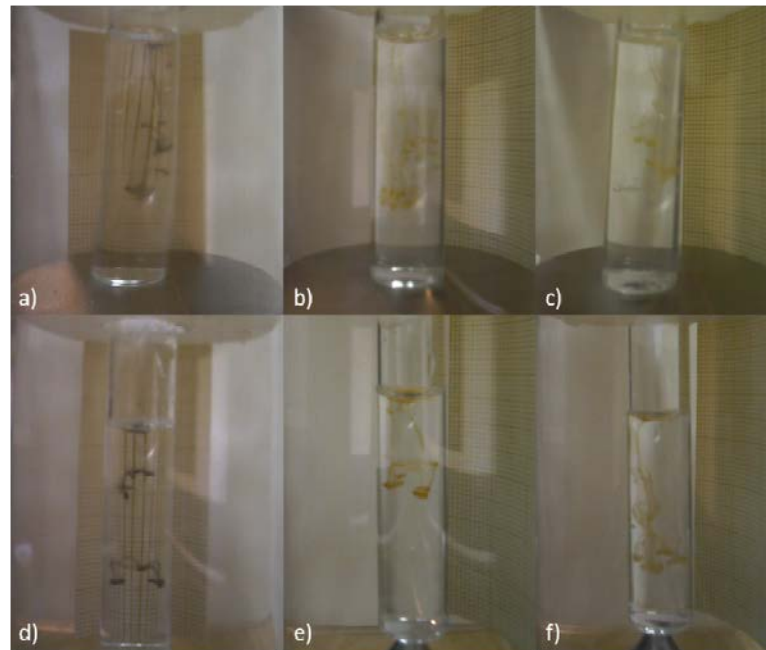


Figura 33. Comparativa entre el comportamiento de las PMs con un CME sin focalizar en: a) $8\ \mu\text{m}$, b) $1.31\ \mu\text{m}$ y c) $50\ \text{nm}$; y focalizado en: d) $8\ \mu\text{m}$, e) $1.31\ \mu\text{m}$ y f) $50\ \text{nm}$; para mostrar el fenómeno de auto-organización.

La tercera dependencia que afecta la presencia del fenómeno de auto-organización es una nueva variable, que a su vez depende de la fuerza con la que se insertan las PMs y que podría semejarse a la fuerza aplicada por una persona sobre una jeringa para insertar su contenido. La velocidad con la que salen las PMs del dispensador no es conocida porque no se puede conocer con certeza la fuerza que aplica una persona sobre el émbolo de una jeringa, pero de información proporcionada en un dosificador automático eLINE 300 sobre la velocidad de salida del dispensador y mostrada en la tabla VIII, se intuye que por debajo de 9 mm/s de velocidad de dosificación se puede replicar el fenómeno mencionado. Para sustentar lo anterior se presenta la figura 34, en la cual se presenta el comportamiento de las PMs de 8 μm a la influencia de un CME focalizado utilizando la pipeta automática. La Pipeta eLINE, como se expresa en la tabla VIII, tiene 9 configuraciones diferentes de velocidades para el pistón, en este experimento se utilizó la mínima para observar el fenómeno y además se programó el dispositivo para que hiciera una única dosis de 5 μl de PMs. Se puede comprobar que al realizar la dosificación de las PMs, éstas se depositan instantáneamente en el fondo del tubo de ensaye, sin la formación de anillos concéntricos y sin difundirse a lo largo del trayecto; sino que se acumulan justo en donde hace contacto la punta del cono. Esta comprobación se realizó en 12 ocasiones y en todas ellas se observó el mismo resultado. Cabe mencionar que los distribuidores de la pipeta automática eLINE que han proporcionado la información de la velocidad del pistón restringen los valores puesto que corresponden a una fase en equilibrio durante el movimiento del

pistón, por lo que puede existir variación en ellos por causa de las propiedades intrínsecas de aceleración y desaceleración del pistón.

Tabla VIII. Velocidad del pistón de la pipeta eLINE 300 y su correspondiente número de configuración.

Modelo eLINE	Velocidad del Pistón [mm/s]								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10,120,300,1000 μ l	9	15	20	26	32	39	44	50	55



Figura 34. Experimento realizado utilizando la pipeta eLINE 300 siguiendo la misma metodología propuesta, con PMs de 8 μ m y un CME focalizado.

De manera general, se puede decir que los fenómenos magnéticos no convencionales que se han observado en los estudios experimentales pueden ofrecer ventajas sobre las soluciones actuales en la biomedicina, esto será más evidente mientras más se estudien y caractericen.

5.5 Fantoma de sangre humana

La actualidad de la nanociencia y nanotecnología se encuentra en transición entre la experimentación en laboratorios y el desarrollo de equipos para aplicaciones biomédicas que ayuden en el diagnóstico y tratamiento de

enfermedades como cáncer, Alzheimer, Mal de Parkinson, etc. La tendencia actual se dirige al uso de micro y nanopartículas para la liberación de fármacos, detección precoz de enfermedades degenerativas, generación de hipertermia, agentes de contraste para imagenología o guiado y focalización, entre otras. Para dichos fines, en la mayoría de las aplicaciones se pretende usar el torrente sanguíneo donde, entre los elementos formes, los leucocitos pueden llegar a tener diámetros de hasta 25 μm , que son aproximadamente entre 100 y 2500 veces más grandes que las nanopartículas que se desean incorporar; por tanto tener en cuenta las distintas propiedades de la sangre representa un factor importante. Entonces, el uso de soluciones o coloides que simulen los fluidos fisiológicos del cuerpo humano resulta de gran relevancia para trasladar los trabajos de experimentación in vitro a in vivo. Para esto sería deseable disponer de un coloide lo más similar posible a la sangre humana, considerando características como morfología y tamaño de los elementos que la componen, composición porcentual y densidad en peso de los mismos, características cinéticas, mecánicas, electrolíticas, magnéticas, etc. Por otro lado, existen equipos biomédicos utilizados para tratamiento y análisis de sangre humana, por ejemplo: equipo de hemodiálisis, membranas, fístulas, jeringas, stents coronarios, etc., que requieren ser probados y calibrados antes de salir al mercado o como un proceso de mantenimiento.

El fantoma⁴ sugerido no está ni anticipado ni sugerido en la técnica por lo que ha sido patentado [García et al., 2011], y es producto de un proceso de elaboración que supone un hecho inventivo en sí mismo ya que es la primera vez que se contempla la combinación de todos los orgánulos y variables determinantes de la sangre humana para la obtención de un modelo tan completo. La invención resuelve una necesidad de suma importancia en la técnica en el diseño de equipos biomédicos, ya que la investigación micro y nanométrica necesita conocer las interacciones de los orgánulos celulares con cualquier posible agente externo. Por otro lado, aporta una solución al problema latente de extrapolación de resultados experimentales a aplicaciones biomédicas potenciales en laboratorios, hospitales, clínicas, instituciones educativas, centros de investigación, etc. Asimismo, permite obtener una mejor evaluación de equipo biomédico cuyos fines sean el tratamiento o análisis de sangre humana, ya que por sus características permite la prueba y calibración de este tipo de equipo aportando un nivel mayor de fiabilidad a los mismos. El problema que se plantea pues en la técnica es encontrar un simulador de sangre humana capaz de tener en cuenta todas sus características más significativas. La solución que se propone es un fantoma capaz de simular a los eritrocitos, leucocitos y trombocitos en una base coloidal con viscosidad similar a la de la sangre humana.

⁴ La palabra Fantoma tiene como acepción médica hacer referencia a un modelo de algún sistema, órgano o biofluido del cuerpo humano.

Las tres características que hacen único en su tipo al fantoma propuesto son:

- la cantidad porcentual en peso de eritrocitos, leucocitos y trombocitos,
- el tamaño corpuscular de los mismos, y
- la viscosidad del fluido.

La Figura 35 es una comparativa entre una imagen de sangre humana real y el producto ofrecido. En ella se puede observar la similitud en tamaño de los eritrocitos e identificarse otras partículas de tamaños similares a los trombocitos. Pare este ejemplo en particular los leucocitos son considerados del mismo tamaño que los eritrocitos y las partículas más pequeñas equivalen a los trombocitos.

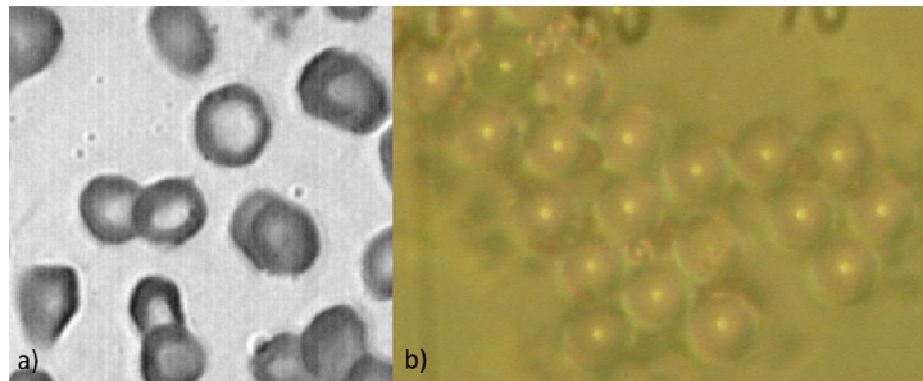


Figura 35. Comparativa de una imagen de sangre humana real y el fantoma de sangre humana: en a) la sangre real y en b) el fantoma de sangre humana.

El proceso de obtención del fantoma de sangre permite controlar la viscosidad del medio y la cantidad porcentual de elementos similares a los que componen la sangre humana, por esta razón es posible obtener diversas combinaciones como las mostradas en la tabla IX.

Tabla IX. Combinaciones posibles de tipos de sangre humana que pueden ser concebidas con el proceso de fabricación del fantoma de sangre.

Producto	Descripción
Fantoma de Sangre – H	Fantoma con la composición y viscosidad promedio de un hombre.
Fantoma de Sangre – M	Fantoma con la composición y viscosidad promedio de una mujer.
Fantoma de Sangre – N	Fantoma con la composición y viscosidad promedio de un niño(a).
Fantoma de Sangre – B	Fantoma con la composición y viscosidad promedio de un bebe.
Fantoma de Sangre – A	Fantoma con la composición y viscosidad promedio de una persona anémica.
Fantoma de Sangre – D	Fantoma con una composición diluida y viscosidad estándar.
Fantoma de Sangre – P	Fantoma personalizado.

Tal y como se ha mencionado en la sección V.4, el diámetro de las partículas magnéticas resulta muy importante para lograr un movimiento eficiente de éstas a través del medio en el que estarán inmersas y se hace crítico cuando su uso está destinado a funcionar en un medio que contiene elementos con tamaños superiores a los que tienen las partículas. Por lo anterior resulta sumamente importante la utilización de fantomas del cuerpo humano que permitan intuir y predecir el comportamiento de cualquier tipo de partícula magnética, de esta forma se pueden solucionar errores previamente y tener en consideración los que pudieran aparecer, e inclusive tener preparadas soluciones inmediatas.

CAPÍTULO 6

6. Aplicación Biomédica

6.1 Marco de Referencia

El ritmo de desarrollo de las tecnologías médicas es tan acelerado que dichos dispositivos tienen una vida promedio de 18 meses, es decir, que pasado ese tiempo las empresas ya han concebido un nuevo equipo o una mejora del mismo para no salir del mercado. Tales periodos de tiempo son casi imposibles de alcanzar cuando de investigación se habla, por tanto hay que buscar nuevas estrategias para la convergencia de ciencia y desarrollo tecnológico. Aunado a lo anterior, es indispensable la creación de equipos multidisciplinarios que cuenten con médicos especialistas que den valor a los productos sanitarios concebidos en el seno de grupos de investigación.

Con tal fin, se ha optado por un cambio en la forma de aplicar los conocimientos adquiridos durante la investigación. Particularmente hablando, la aplicación biomédica que se ha logrado desarrollar ha sido un esfuerzo común entre el Hospital Universitario Ramón y Cajal, a través de su departamento de

oftalmología, la Universidad Politécnica de Madrid con el Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina, y la Universidad Autónoma de Madrid representada por el Departamento de Física. El primero de ellos propuso el problema a resolver, el segundo aportó las hipótesis y finalmente soluciones conceptuales gracias a la experiencia previa de manipulación y focalización de PMs, y el tercero conjuntó toda su experiencia conceptual y de procesos, en lo que a materiales se refiere, dando como resultado lo que a continuación se presenta.

6.2 Anatomía del Ojo Humano

La anatomía se refiere al estudio de la forma y estructura del cuerpo humano. Cuando dicho estudio se hace de manera regional se le da el nombre de Anatomía Regional, o si va por aparatos (conjunto de órganos formado por varios tejidos) y sistemas (conjunto de órganos en los que predomina un tejido) se le conoce como Anatomía General. En el primero se disecan los órganos que componen al aparato o sistema, por ejemplo: huesos, músculos, tejidos, vasos sanguíneos y vísceras; de una región en particular. En el caso de la anatomía general se diseca por completo cada aparato o sistema corporal y se examinan todos los órganos que los componen con sus vasos y nervios [Yokochi et al., 1991].

En el presente caso, puesto que la aplicación biomédica identificada es en oftalmología se presenta la anatomía del ojo Humano. La figura 36 presenta en a) una vista superior de la órbita derecha con globo ocular y músculos

extraoculares, en b) una vista lateral del corte sagital de la órbita y el globo ocular derechos, y en c) una vista anterior de los músculos extrínsecos del ojo. Los números de las vistas presentadas en la figura 16 y el nombre de la parte del ojo humano al que hace referencia se presentan en la Tabla X [Yokochi et al., 1991].

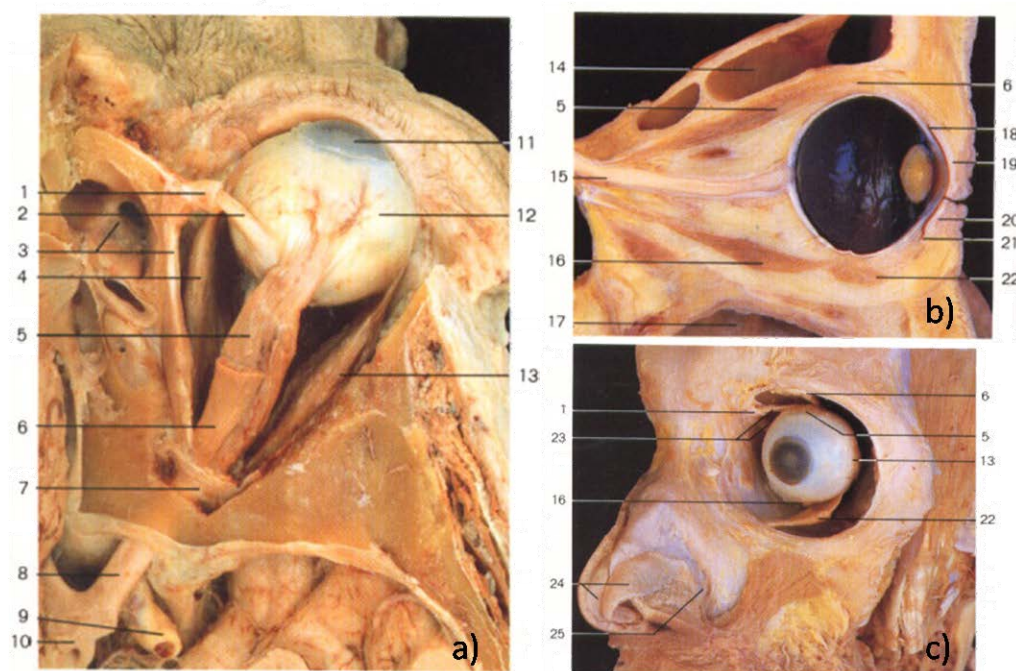


Figura 36. Anatomía del ojo humano. En a) una vista superior de la órbita derecha con globo ocular y músculos extraoculares, en b) una vista lateral del corte sagital de la órbita y el globo ocular derechos, y en c) una vista anterior de los músculos extrínsecos del ojo [Yokochi et al., 1991].

Tabla X. Numeración correspondiente a la Figura 16 y el nombre de la parte del ojo humano al que hacen referencia [Yokochi et al., 1991].

No.	Parte del ojo humano	No.	Parte del ojo humano
1	Polea del músculo oblicuo mayor (superior)	14	Seno frontal
2	Tendón del músculo oblicuo mayor (superior)	15	Nervio óptico (parte extracraneal)
3	Músculo oblicuo mayor, celdas aéreas etmoidales	16	Recto inferior
4	Recto interno	17	Seno maxilar
5	Recto superior	18	Saco conjuntival superior
6	Elevador de párpado superior	19	Cartílago tarso superior
7	Tendón anular común	20	Cartílago tarso inferior
8	Nervio óptico (parte intracraneal)	21	Saco conjuntival inferior
9	Arteria carótida interna	22	Músculo oblicuo menor (inferior)
10	Quiasma óptico	23	Músculo y tendón oblicuo mayor

11	Córnea	24	Cartílago alar mayor
12	Globo ocular	25	Cartílago alar menor
13	Recto lateral		

El ojo humano está únicamente desprotegido de la tercera parte de su totalidad, lo demás se encuentra confinado en una cavidad ósea. El globo ocular es cuasi-esférico, con un diámetro promedio de 25 mm, y está recubierto con un tejido llamado conjuntiva. En la parte anterior del ojo se pueden identificar: la córnea, que es un tipo de tejido conjuntival especial transparente y que carece de vasos sanguíneos; el cuerpo ciliar, que secreta el humor acuoso para el mantenimiento de la córnea junto con las lágrimas; el iris pigmentado, que recubre una parte sustancial de la córnea y que en la parte central deja un hueco por donde pasa la luz llamado pupila. La dilatación y contracción de la pupila están controlados por dos músculos: el dilatador pupilar del iris y el esfínter de la pupila, respectivamente.

Yendo hacia la parte trasera del iris se encuentra el cuerpo ciliar, formado por fibras musculares lisas. El cristalino está unido al cuerpo ciliar a través de una serie circular de fibras denominadas ligamentos suspensorios. Al igual que la córnea, el cristalino carece de vasos sanguíneos, por lo que su nutrición es dependiente de la difusión de éstos a partir del humor acuoso. Por detrás de cristalino y cuerpo ciliar se extiende la cámara vítrea, formada por humor vítreo y que da consistencia a la esfericidad del ojo a través del control de la presión intraocular [Pocock and Richards, 2005]. La figura 37 presenta las estructuras principales del ojo humano con una vista transversal de éste.

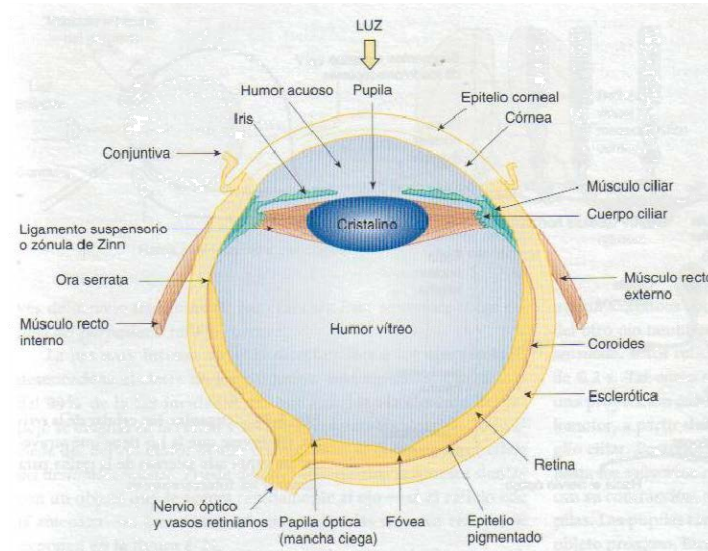


Figura 37. Estructuras que componen el ojo humano. Vista Transversal [Pocock and Richards, 2005]

Continuando, en la parte de atrás del ojo se encuentra el nervio óptico, encargado de llevar la información sensorial al cerebro. De éste último y hasta donde se encuentra el cuerpo ciliar, por ambos lados, se identifican tres capas: esclerótica, coroides y retina; en la figura 38 se muestra una vista magnificada de dichas capas así como su resistencia al flujo. La importancia de estas tres capas en el desarrollo de la aplicación merece su descripción con mayor detalle.

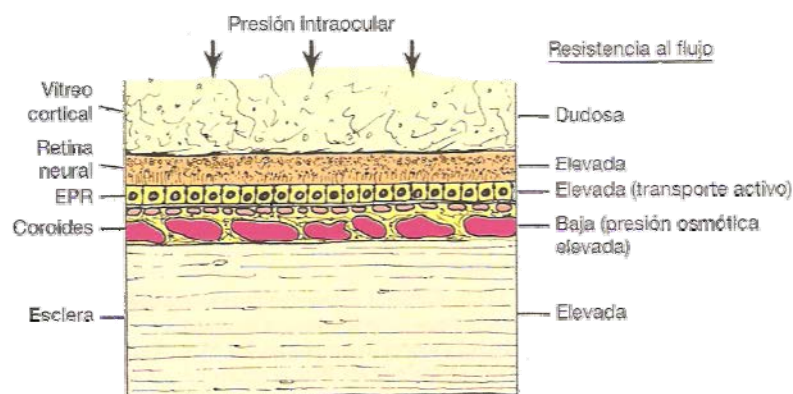


Figura 38. Capas tisulares en la parte posterior del ojo incluido el vítreo cortical. Del lado derecho se presentan los nombres de las capas y a la izquierda la resistencia al flujo de cada una [Stephen J. Ryan, 2009].

6.2.1 Esclerótica

Es la capa más externa del ojo, tiene un color blanco y es muy resistente. Está formada por colágeno y fibras elásticas, su principal función es la protección del ojo. Consta de una sección más externa llamada epiesclerótica formada esencialmente por tejido conjuntivo, que a diferencia de la esclerótica está vascularizada. Dos de sus principales funciones son: nutrición de la esclerótica y respuesta celular a la inflamación.

El espesor de la esclerótica varía desde 300 μm inmediatamente por detrás de la inserción de los músculos rectos, hasta 1-1,35 mm en el polo posterior. Por delante, en el limbo⁵, el espesor es de 600 μm y en el ecuador varía entre 400 y 600 μm [Stephen J. Ryan, 2009].

6.2.2 Coroides o Úvea

Esta capa se encuentra entre la retina y la esclerótica, está muy vascularizada y tiene una red importante de tejido conectivo. Su color es oscuro debido a la alta vascularización. Por la parte de atrás conecta el nervio óptico y por delante la zona ciliar. La función más importante está relacionada con su alta vascularización, a través de la cual nutre algunas de las estructuras del globo ocular. Además, es la encargada de mantener la temperatura constante.

El espesor de la coroides es de 400 μm y se adelgaza de atrás hacia adelante hasta llegar a 200 μm [Stephen J. Ryan, 2009].

⁵ Limbo: área donde la córnea, la esclerótica y la conjuntiva están sobrepuestas.

6.2.3 Retina

La retina se encuentra sobre casi toda la superficie del globo ocular hasta el cuerpo ciliar y por detrás hasta la estrella macular. Su función es completamente sensorial y para ello cuenta con ocho capas. Empezando por la capa coroidea vascular, el primer componente más externo es el epitelio pigmentario retinal (EPR), después los segmentos externos de los fotorreceptores, capa nuclear externa, capa plexiforme externa, capa nuclear interna, capa plexiforme interna y finalmente la capa celular ganglionar que conecta con el nervio óptico.

La tarea sensorial que realiza la retina es un proceso que pasa a través de todas las capas mencionadas. Ésta empieza por los bastones y conos, que a su vez están unidos por sinapsis a células horizontales, bipolares y amacrinas; todas ellas establecen contacto con células ganglionares que transmiten todo a través del nervio óptico. La figura 39 muestra la organización celular de la retina y las capas que la componen.

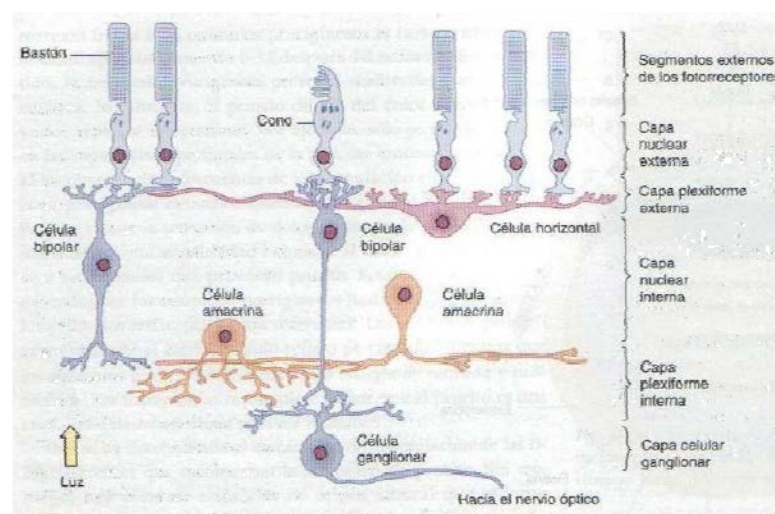


Figura 39. Organización celular de la retina y las capas que la componen [Pocock and Richards, 2005].

Finalmente, el grosor de la retina varía entre 800 μm en su porción más gruesa, y 100 - 200 μm en la región más delgada.

Los mecanismos asociados con la adherencia de la retina al EPR de acuerdo con [Stephen J. Ryan, 2009] se enlistan a continuación,

- La presión que ejerce sobre la retina el movimiento líquido y el gel vítreo.
- La interdigitación física de los segmentos externos de los fotorreceptores con las microvellosidades del EPR, facilitada por la presencia de una matriz interfotorreceptora (MIF) compuesta por una sustancia mucopolisacárida viscosa y estructuralmente compleja, donde existen receptores específicos que permiten su firme unión a los segmentos externos y al EPR.
- La capacidad de remodelación del EPR.
- La oxigenación continua y actividad metabólica del EPR que mantiene la MIF deshidratada.
- La bomba del EPR. El EPR se encarga de la evacuación del líquido desde el espacio subretiniano hacia la coroides, mediante una serie de mecanismos fisiológicos, como lo son el sistema de transporte activo de agua ligado a solutos, la creación de un gradiente osmótico y fuerzas hidrostáticas en menor medida.

Estos procesos tienen especial importancia en la solución propuesta ya que existe una dependencia importante de éstos con la interacción dispositivo ocular – retina. Por otro lado, cuando un desgarro retiniano se produce es

debido a que alguno de estos mecanismos ha fallado por causa de un estrés patológico significativo, que se suma de forma conjunta a condiciones patológicas subyacentes y a la existencia de desgarros o fugas en el EPR, es decir, condiciones que permiten que el líquido subretiniano persista. Finalmente, dicha adherencia deber ser vista como un proceso de naturaleza multifactorial, con componentes tanto metabólicos como pasivos.

6.3 Descripción del Problema

El desprendimiento de retina (DR) hace referencia a cuando la retina neurosensorial se separa del EPR, provocando la acumulación de líquido subretiniano (LSR). Se pueden clasificar según su etiopatogenia⁶ en tres tipos, y se enumeran a continuación con una breve descripción de los mismos. Si se desea abundar en el tema se recomienda asistir a [Stephen J. Ryan, 2009], [Brinton et al., 2009] y [Calderón, 2011]:

- 1) DR Traccional, en el cual la retina se separa mecánicamente del EPR debido a la existencia de unas fuerzas traccionales vitreoretinianas, que normalmente están asociadas a la formación de una membrana anómala o a los movimientos de rotación del ojo.
- 2) DR Regmatógeno, es el tipo más frecuente, donde se produce una rotura del grosor completo de la retina, pudiendo consistir tanto en un desgarro como en un agujero retiniano. Se caracteriza por la

⁶Se refiere al estudio de los factores que causan o intervienen en el desarrollo de una enfermedad específica.

licuefacción del gel vítreo, la existencia de unas fuerzas de tracción que hagan que la retina se rompa, ya que de esta forma el vítreo licuado podrá pasar al espacio subretiniano a través de los agujeros.

- 3) DR Exudativo, se produce una elevación ampollosa de la retina y una acumulación de líquido subretiniano sin un desgarro retiniano previo, debido a su producción excesiva (por ejemplo, por la existencia de una lesión neoplásica⁷), función de bombeo del EPR mermada (resultado de una enfermedad inflamatoria) o sangre (neovascularización coroidea).

El DR es una patología que afecta a 6,3 – 17,9 (dependiendo de la situación geográfica) de cada 100.000 habitantes [Mitry et al., 2010], esto es, aproximadamente entre 4.317.057,88 y 12.265.926,35 personas en el mundo la padecen. Pero la estadística más preocupante es que solamente el 90% de los casos son tratables, y de ese porcentaje el 40% son reincidentes. De acuerdo con lo anterior, aproximadamente el 50% de las personas que padecen DR presentarán un re-desprendimiento, y por tanto una segunda intervención quirúrgica, o no serán operados. Esto aunado a las posiciones posoperatorias tan incómodas que deben adoptar los pacientes, da motivación para la búsqueda de nuevas soluciones.

⁷Es el proceso de proliferación anormal de células en un tejido u órgano.

6.3.1 Fuerzas implicadas en el DR

Los desgarros y desprendimientos retinianos, de acuerdo con [Stephen J. Ryan, 2009] y [Brinton et al., 2009], se adjudican principalmente a las fuerzas de tracción vítrea y al movimiento intraocular de líquido.

Las fuerzas ejercidas sobre la retina por el vítreo pueden ser radiales, tangenciales u oblicuas. Un ejemplo de fuerza radial es la fuerza de la gravedad sobre el gel vítreo adherido a la retina. La fuerza tangencial puede ser ejercida por las membranas epirretinianas adheridas a la superficie de la retina, aunque en esta situación también existe una pequeña componente radial hacia el interior del ojo, debido a la forma cóncava de la pared, que es proporcional a la tensión de la membrana e inversamente proporcional al radio de curvatura de la pared del ojo. Finalmente, las fuerzas oblicuas son una combinación de las anteriores y provocará un desgarro cuando supere la fuerza de adherencia del EPR a la retina.

Por otro lado, los movimientos de rotación del ojo pueden dar lugar a fuerzas de tracción que actúan sobre la retina, provocando el paso de líquido de la cavidad vítrea hacia el espacio subretiniano a través de los desgarros retinianos, creando un desprendimiento de retina.

6.3.2 Respuesta Fisiológica

Tomando como referencia [Stephen J. Ryan, 2009] y teniendo presente que los estudios se llevan a cabo en modelos animales, se han identificado diferentes respuestas fisiológicas que permiten identificar la aparición de un DR

según se produzcan en la interface EPR-fotorreceptores o en la retina interna.

Con respecto a la primera se puede presentar

- cambio en la morfología de las células del EPR y acortamiento de las microvellosidades,
- degeneración de los segmentos externos de los fotorreceptores, como acortamiento y cambio de orientación, siendo los bastones los que se degeneran a mayor velocidad,
- transformación de la monocapa uniforme en una morfología heterogénea debido a la proliferación de las células del EPR. Éstas migran, junto con células de otras morfologías, al espacio subretiniano y fagocitan restos celulares que provienen de la degeneración de los fotorreceptores.

En el segundo caso se puede distinguir

- muerte de una población variable de fotorreceptores,
- remodelación neuronal,
- proliferación de todos los tipos de células de la retina que no son neuronales,
- hipertrofia de las células de Müller, que son células gliales especializadas que forman el andamiaje de la retina, en concreto, la lámina limitante interna.

Ambas respuestas fisiológicas presentadas arriba tienen repercusión directa en la recuperación visual cuando un DR ha ocurrido, así como su duración temporal antes de la intervención quirúrgica. Sin embargo, puesto que

los estudios clínicos se realizan en modelos animales, en humanos aún no se comprenden las interacciones celulares entre el EPR y los fotorreceptores, pero sí se sabe que la regeneración de la longitud de éstos varía entre regiones dentro la retina. De la misma forma, se sabe que tras una reaplicación, las prolongaciones de las células de Müller se elongan hasta el vítreo, lo cual puede producir arrugas e incluso un re-desprendimiento. En general, tras una re-aplicación, no se puede ofrecer al paciente una recuperación del 100%.

6.4 Modalidad terapéutica propuesta para corregir el DR

Existen varias modalidades terapéuticas para la corrección del DR como: retinopexia mediante criopexia y fotocoagulación, retinopexia neumática, procedimientos extraoculares de cerclajes y explantes, y vitrectomía vía pars plana (VPP); éste último es el procedimiento más frecuente utilizado en el tratamiento de DR actualmente y el cual se ha propuesto para llevar a cabo los ensayos con modelos animales. Si se desean ampliar los temas mencionados se recomienda revisar [Stephen J. Ryan, 2009], [Brinton et al., 2009] y [Calderón, 2011].

Primeramente, la pars plana es la parte del ojo donde la retina está tan adherida al epitelio pigmentario de la retina que imposibilita que se desprenda (ver figura 40). Ésta tiene la ventaja de que en ella retina, coroides y esclerótica tienen sus espesores más pequeños, por tanto se encuentran muy unidas y no se provocan lesiones al introducir el instrumental.

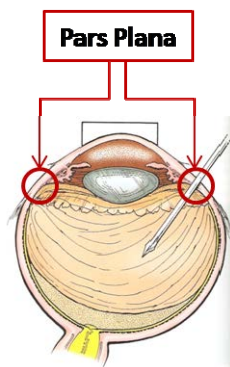


Figura 40. Vista de corte transversal sobre el ojo humano. Se muestra la sección correspondiente a la Pars Plana, sección donde la retina, coroides y esclerótica tienen sus grosores más pequeños.

Por tanto, la VPP es una metodología quirúrgica empleada por excelencia para la corrección del desprendimiento de retina, que consta de la colocación de varias entradas al interior del globo ocular a través de la pars plana. Generalmente una de las vías se usa para introducir fluido en el interior del ojo que repone la extracción de material vítreo realizado por un aparato llamado vitrectomo introducido por otra de las vías. El vitrectomo consta de un sistema de aspiración asociado a una cuchilla que segmenta el vítreo para poderlo aspirar y evitar tracciones sobre la retina que la pudieran desprender o desgarrar. Finalmente, suele ser necesario una tercera vía que permite iluminar el interior del ojo y ver las maniobras quirúrgicas realizadas por el médico ayudado de una lente especial y un microscopio quirúrgico, aunque hay opción de evitarla iluminando el interior con el propio microscopio quirúrgico con lámpara de hendidura. En la figura 41 se muestra una secuencia de imágenes que representan los pasos a seguir al realizar la VPP. Lo primero es localizar la pars plana y hacer una incisión (1) sobre la esclerótica para acceder al globo ocular (2). En ese orificio se coloca una cánula que sirve para controlar las presiones intraoculares y que no haya una descompensación de las mismas (3).

Una vez controlada la presión intraocular se hace otro agujero sobre la esclerótica para instrumental de manipulación y si es necesario un tercer agujero para iluminación, como se ve en (4). El paso (5) representa la manipulación del instrumental en el interior del globo ocular que puede corresponder a la reaplicación de la retina, extracción de líquido subretiniano, etc. [Stephen J. Ryan, 2009].

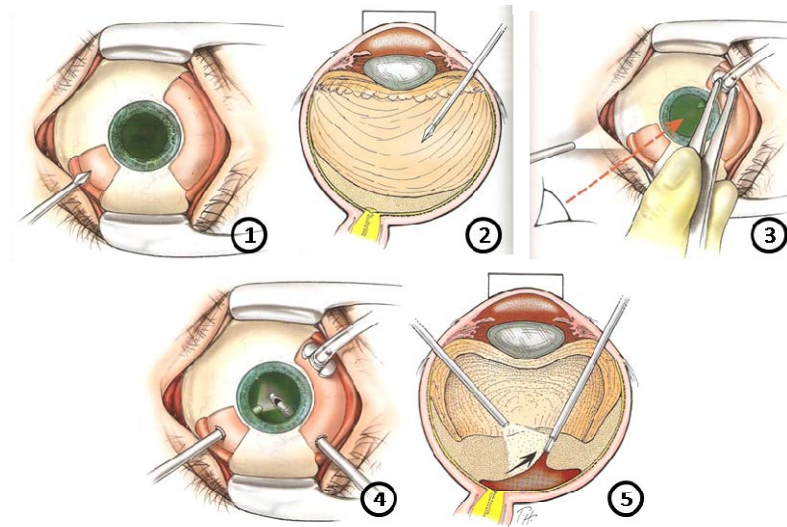


Figura 41. Pasos seguidos por los médicos oftalmólogos para la vitrectomía vía pars plana [Stephen J. Ryan, 2009].

Continuando, y con la finalidad de tener una comparativa de los pasos explicados arriba para la vitrectomía, se presenta la figura 42. En ella se muestra una vitrectomía real realizada en el Hospital Universitario Ramón y Cajal por los médicos oftalmólogos en un ojo de conejo albino Neozelandés. Se puede observar que los instrumentos y colocación del control de presión intraocular coinciden con las representaciones de la figura 41.

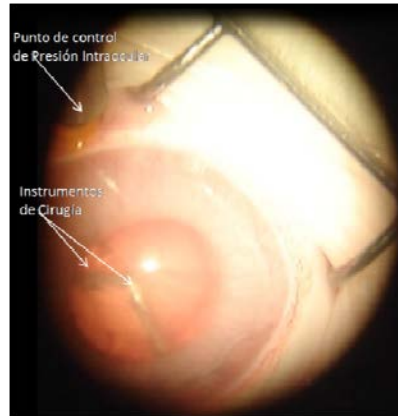


Figura 42. Instantánea sacada de una vitrectomía practicada sobre un ojo de conejo albino por médicos oftalmólogos del Hospital Universitario Ramón y Cajal.

6.5 Procedimiento quirúrgico actual para la corrección del DR

Tras la vitrectomía se procede a re-aplicar la retina mediante líquidos perfluorocarbonados (PFC), normalmente de alta densidad y baja viscosidad. Sin embargo estos fluidos no se pueden dejar mucho tiempo en el interior del ojo porque se dispersan en burbujas de 2-3 días, disminuyendo la agudeza visual (AV), con posibilidad de pasar al espacio subretiniano, bloquear la malla trabecular; aumentando la presión intraocular (PIO). Además, son tóxicos químicamente y por presión mecánica. Ésta última es debida a su elevada gravedad específica que ocasiona daños en las capas externas de la retina.

Una vez la retina está aplicada y se ha extraído el PFC se realizan procedimientos de retinopexia como la fotocoagulación con endoláser o la criopexia. Una vez hecho lo anterior se deja un taponador retiniano ocupando la cámara vítrea que puede ser gas, silicona o una mezcla de ambos; que permiten mantener la retina en su lugar hasta que la retinopexia haya realizado su efecto, así como taponar los agujeros retinianos.

6.6 Soluciones actuales como taponadores del DR

6.6.1 Gases

Los gases son menos densos que el suero fisiológico que rellena el globo ocular tras la vitrectomía, por lo que ascienden; y mediante el posicionamiento de la cabeza del paciente y el mantenimiento postural que favorezca la posición del gas sobre el desgarro, se dirigen para actuar como taponadores retinianos permitiendo aplicar la retina, taponar el agujero y que la función de bomba del EPR drene el LSR restante. La fuerza que ejercen sobre la retina es 10 veces mayor que con la silicona.

El uso de los gases como taponadores exige un manejo postoperatorio cuidadoso con decúbito prono para evitar el bloqueo pupilar y daño endotelial, control de la PIO por el riesgo de hipertensión ocular (HTO), así como mantenimiento postural para que la burbuja de gas ascienda taponando la zona de las roturas retinianas el tiempo suficiente para que la retinopexia tenga su efecto. Las complicaciones derivadas del uso de gases como taponadores son la HTO, la inducción de catarata, la descompensación endotelial y el paso del gas al espacio subretiniano.

6.6.2 Siliconas

Las siliconas se usan en el tratamiento del DR en casos especialmente complicados que requieran un taponamiento prolongado como son los DR con proliferación vitreoretinianas severa (PVR), retinopatía diabética proliferativa severa, agujero macular que no sean capaces de mantener la postura, DR por desgarro gigante, DR con coloboma coroideo, uveítis e hipotonía permanente,

retinitis infecciosas, traumatismos, DR pediátrico complicado y endoftalmitis. Permiten prescindir de un postoperatorio exigente en sentido postural y mantener un taponamiento prolongado, pero con importantes efectos secundarios como son: el paso inadvertido a espacio supracoroideo o subretiniano, la PVR en zona inferior, los problemas ópticos intraquirúrgicos y postquirúrgicos al cambiar el índice de refracción en la cámara posterior, el paso de silicona a cámara anterior con riesgo de queratopatía bullosa, el glaucoma por bloqueo pupilar, bloqueo ciliar u obstrucción del trabeculum por silicona emulsificada, membrana epirretiniana macular y una alta incidencia de catarata.

6.7 Proyecto NanoRetina

6.7.1 Antecedentes

Tanto médicos como los sistemas de salud pública y privada de países en vías de desarrollo y desarrollados, buscan constantemente innovar a todo los niveles las terapias, los procesos de diagnóstico y las metodologías quirúrgicas con la finalidad de ofrecer a los pacientes una mejor calidad de vida.

Buscando mejorar las condiciones de los pacientes que padecen algún tipo de desprendimiento de retina, los integrantes del Departamento de Oftalmología del Hospital Universitario Ramón y Cajal (DOft-HURyC), liderados por el Dr. Francisco José Muñoz Negrete, propusieron al Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina del Centro de Tecnología Biomédica (LBN-CTB) la utilización de ferrofluidos como taponadores de los agujeros retinianos

causantes del DR. Lo anterior, fue estudiado por el LBN para ver la viabilidad del proyecto de acuerdo con su experiencia en la manipulación de partículas magnéticas, y tras un proceso de análisis y experimentación se consideró que la propuesta hecha por los médicos tenía un índice alto de éxito. De este mismo proceso de evaluación se concluyó que existía una necesidad imperativa de incorporar al equipo de trabajo expertos en materiales, es así como se contacta con el Dr. Miguel Manso Silván del Departamento de Física de la Universidad Autónoma de Madrid (DFis-UAM), quien junto con su grupo tras ser informados de las condiciones del proyecto, aceptaron participar quedando establecida la colaboración: LBN-DOft-DFis.

6.7.2 Validación in vitro del proyecto

Después de dos años de dedicación al entendimiento de los fenómenos magnéticos que gobiernan el comportamiento de las partículas magnéticas [García et al., 2009, García et al., 2010a, García et al., 2010b], se analizaron las posibilidades de éxito del proyecto propuesto por los médicos oftalmólogos basados en la biocompatibilidad de los materiales y la interacción adecuada del sistema propuesto. El primero estaría orientado a los materiales utilizados tanto en ferrofluido como en el explante ocular, y el segundo a la observación in vitro de los elementos del sistema.

6.7.2.1 Elección del Ferrofluido y sus materiales

El conocimiento y la experiencia adquirida en la participación en congresos nacionales e internacionales, cuyas memorias están disponibles en [Fundation,

2009b, Fundation, 2010b, Fundation, 2009a, Fundation, 2010a], permitieron ampliar las posibilidades para la utilización de materiales biocompatibles como recubrimiento de partículas magnéticas. Particularmente en este proyecto se optó por la utilización de Silicio. Se realizó una extensa búsqueda de empresas que fabricaran partículas magnéticas con este tipo de recubrimiento y se optaron por las de la casa comercial Chemicell. Las características más representativas del producto se presentan en la Tabla XI, y en la figura 43 se muestra la casa comercial, el tipo de recubrimiento y dos fotografías tomadas con un microscopio electrónico en a), b), c) y d), respectivamente [Chemicell, 2011].

Tabla XI. Características representativas de las partículas magnéticas Chemicell [Chemicell, 2011].

Núcleo	Recubrimiento	Diámetro	Concentración
Maghemita	Silicio no poroso	2 μm	200 mg/ml

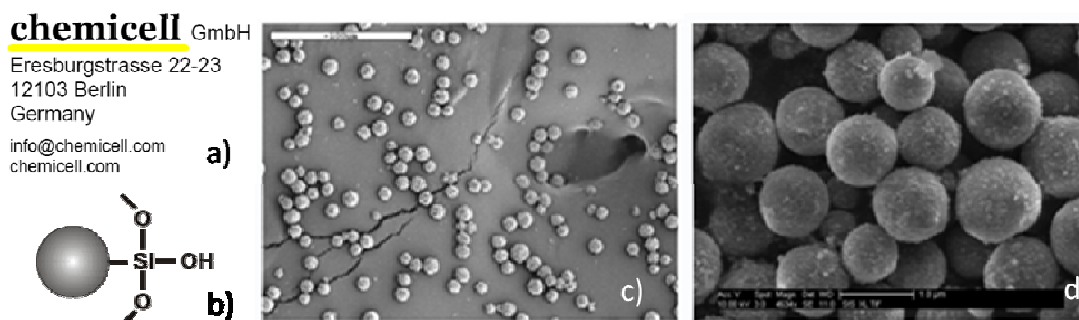


Figura 43. Partículas magnéticas seleccionadas para la etapa de validación de proyecto NanoRetina. En a) la casa comercial, en b) el tipo de recubrimiento que lleva la partícula, c) y d) fotografías tomadas con microscopio electrónico [Chemicell, 2011].

Además, se empleó el AGFM para la caracterización magnética de las partículas seleccionadas. Dicha caracterización se muestra en la figura 44 que presenta el ciclo de histéresis de las PMs comerciales en respuesta a la

aplicación de intensidad de campo magnético en el rango de $-7,972 \times 10^4$ - $7,976 \times 10^4$ A/m con un intervalo de 604,7 A/m.

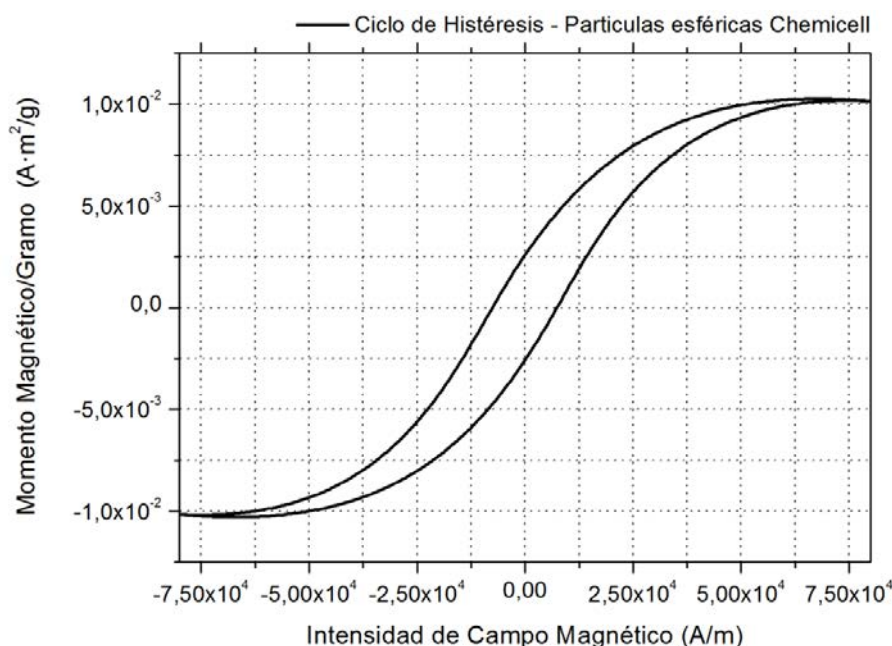


Figura 44. Ciclo de histéresis obtenido en el AGFM para las partículas magnéticas con núcleo de maghemita y recubrimiento de sílice de la marca Chemicell.

Se observa que el momento magnético de saturación por gramo es del orden de $1,01522 \times 10^{-2}$ A·m²/g. Con este dato es posible encontrar la magnetización del material o su susceptibilidad magnética, ya sea por gramo de material o no; y emplearlas en análisis posteriores.

6.7.2.2 Experimentación in vitro

El objetivo de la experimentación in vitro fue observar la interacción magnética del ferrofluido comercial con las fuerzas magnéticas. Los materiales utilizados fueron:

- 1) Tres cajas de Petri de 2,5 mm de diámetro y 2,0 cm de altura.
- 2) Coloide de agar-agar al 0,03% en peso con una viscosidad aparente de 1,45 mPa·s.

- 3) Ferrofluido comercial.
- 4) Micropipeta.
- 5) Imán cilíndrico de 45 mm de diámetro por 30 mm de altura, con una inducción magnética de 1 T en el núcleo del imán, compuesto de NdFeB, con recubrimiento de Ni-Cu-Ni y magnetización sobre su eje central.
- 6) Cono de Fe con diámetro en la base de 45 mm y una altura de 30 mm.
- 7) Cámara web de alta resolución.

Para la comparación de resultados se propuso la utilización de una muestra de control y dos para la aplicación del CME sin focalizar y focalizado, todas ellas con 10 μ l de ferrofluido. Dichos campos se aplicarían en sentido contrario a la fuerza de gravedad para ver sus efectos. La primera etapa se muestra en la figura 45, que es una secuencia de imágenes que corresponden al experimento de control: en a) la caja de Petri con el líquido de viscosidad controlada, en b) la inserción de la micropipeta con el ferrofluido, en c) la inserción del ferrofluido, y en d) el ferrofluido colocado en la caja de Petri después de 30 minutos. Se observa que el ferrofluido se precipita al fondo de la caja de Petri desde su liberación con la micropipeta y puesto que no hay influencia de un CME se mantiene en esa posición después de 30 minutos, hasta la finalización del experimento. En este experimento las fuerzas que actúan son: el peso, la gravedad y la fricción; ésta última actúa en sentido

contrario a las dos primeras pero no es lo suficientemente grande como para mantener a las partículas magnéticas suspendidas en el medio.

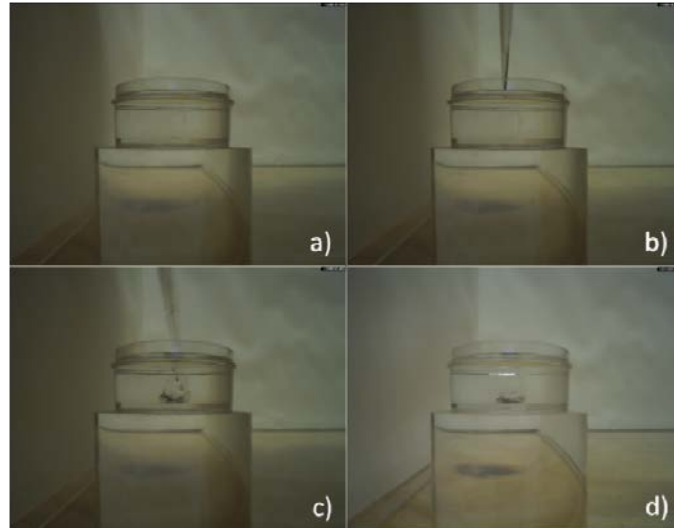


Figura 45. Secuencia de imágenes de la muestra de control para la validación de manipulación de partículas magnéticas. En a) la caja de Petri con el líquido de viscosidad controlada, en b) la inserción de la pipeta de precisión con el ferrofluido, en c) la inserción del ferrofluido, y en d) el ferrofluido colocado en la caja de Petri después de 30 minutos.

La segunda parte del experimento estuvo orientada a la aplicación de CME considerando toda la superficie del imán. Para ello se incorporaron las partículas magnéticas en el fondo de la caja de Petri, a la cual se le puso su tapa para evitar escurrimientos. Posteriormente, se acercó el imán por la parte superior de la caja de Petri y se observó una interacción inmediata entre partículas magnéticas e imán. Las PMs fueron capaces de romper la influencia de la fuerza de gravedad al interaccionar con el CME e inclusive pasaron a través del espacio ocupado por aire entre líquido y tapa, depositándose sobre la superficie de ésta última que estaba en contacto con la cara polar del imán. Además, debido a la fuerte interacción magnética fue posible coger el imán por la parte superior y levantarlo sin que se soltase la caja de Petri, e incluso se hicieron movimientos bruscos para lograr separarlos sin éxito alguno. Lo

anterior dio idea de la fuerte respuesta de las PMs al CME y de las precauciones que deberían tomarse en los diseños que pudieran surgir. Al retirar el imán de la caja de Petri las PMs comenzaron a depositarse sobre el líquido viscoso de manera aleatoria y en su mayoría siguiendo el movimiento del fluido. Todo lo descrito arriba se muestra en la figura 46 con una secuencia de imágenes, se ve en a) la inserción de las PMs en el fondo de la caja de Petri, en b) las PMs en el fondo de la caja de Petri, en c) el acercamiento del imán, en d) la interacción experimentada por las PMs, en e) el levantamiento de la caja de Petri debido a la interacción de las PMs con la fuerza magnética, y en f) las PMs depositándose una vez retirado el CME.



Figura 46. Secuencia de imágenes de la segunda parte del experimento para la validación de manipulación de partículas magnéticas con un CME. En a) la inserción de las PMs en el fondo de la caja de Petri, en b) las PMs en el fondo de la caja de Petri, en c) el acercamiento del imán, en d) la interacción experimentada por las PMs, en e) el levantamiento de la caja de Petri debido a la interacción de las PMs con la fuerza magnética, y en f) las PMs depositándose una vez retirado el CME.

La tercera parte consistió en adjuntar al imán un cono para focalizar las líneas de campo magnético. La metodología seguida fue similar al experimento

anterior, excepto que se acercó el imán con el cono. Se observó una interacción inmediata entre el CME y las PMs pero éstas tendieron a aglomerarse en la parte superior del líquido viscoso justo por debajo de la punta del cono sin pasar el espacio ocupado por aire entre el líquido y la tapa de la caja de Petri. Dicha aglomeración es una respuesta directa a las líneas de campo focalizadas que salen de la punta del cono, las cuales magnetizan las PMs que interaccionan entre ellas mismas como pequeños dipolos. Esta deducción se basa en que cuando se retiró el CME las partículas siguieron aglomeradas durante un periodo largo de tiempo; el primer cúmulo de PMs se depositó aproximadamente a los 2 minutos de haber retirado el CME, y de la misma manera fueron cayendo más cúmulos de PMs inclusive después de 45 minutos. La figura 47 contiene una secuencia de imágenes donde se observa el comportamiento de las PMs al CME focalizado. En a) la inserción de las PMs, en b) las PMs en el fondo de la caja de Petri, en c) el acercamiento del imán junto con el cono, en d) la interacción experimentada por las PMs, en e) la aglomeración de las PMs debido a la interacción con el CME focalizado, y en f) las PMs depositándose una vez retirado el CME focalizado después de 10 minutos.



Figura 47. Secuencia de imágenes de la tercera parte del experimento para la validación de manipulación de partículas magnéticas empleando un CME focalizado.

De lo observado en el experimento se concluyó que: *la viabilidad del proyecto estaría sujeta a las posibilidades de focalizar las partículas magnéticas en un punto concreto, ya que de acuerdo con los resultados obtenidos, tener campo magnético estático focalizado permite que las PMs se magnetizen y aglomeren justo en la zona de interés. Además, el campo magnético estático debe ser bajo y bien diseñado porque de lo contrario puede hacer que las PMs traspasen la pared retiniana e inclusive se desplacen a través de coroides y esclerótica, hasta la zona donde se encuentra la fuente de campo magnético. Logrando lo anterior, la aglomeración de PMs podría funcionar perfectamente como taponador de agujeros retinianos.*

Tras la experimentación y análisis se presentaron los resultados a los demás miembros colaboradores del proyecto y se plantearon los siguientes

objetivos inmediatos: elección del modelo animal ideal y la toxicidad in vivo de los materiales que se insertarían en los ojos.

6.7.3 Modelo Animal

La elección del modelo animal para los ensayos in vivo debe estar orientada a la minimización de factores que puedan influir directamente en el análisis de los resultados obtenidos; esto y sabiendo que el ojo del conejo neozelandés tiene características morfológicas y estructurales semejantes a las del ojo humano a excepción del tamaño de cristalino, el cual ocupa casi una tercera parte del globo ocular de acuerdo con [Tsonis, 2008]; y puesto que los ojos de los conejos albinos neozelandeses tienen similitud en cuanto a Retina-Coroides-Esclerótica se refiere resulta apropiado su uso como modelo animal para la evaluación in vivo de dispositivos o procedimientos que involucren la retina.

Para corroborar y darle mayor sustento a la utilización del modelo animal propuesto, se hizo un breve estudio a lo largo de la línea temporal sobre el tipo de modelo usado para diversos ensayos in vivo. Se consideraron 19 referencias, 10 de ellas publicadas en el segundo semestre de 2010 y primero del 2011 [Choonara, 2011, Margaret D.M. Evans, 2011, Pigarev, 2011, Swarnali Das, 2011, R.S. Bhatta, 2011, Codreanu A, 2011, E. Marzec, 2011, Takeaki Kawashima, 2011, Xiang-Gen and Hao-Ran, 2011, Wu and Shi, 2011], las otras 9 son publicaciones desde 1977 hasta 2008 [Swindle and Ravi, 2008, Doi M, 2000, Hegazy HM, 1999, Hong Y, 1998, Tejada P, 1997, Moreira H, 1992, Sparrow JR, 1995, Verstraeten TC, 1990, G., 1977], esto con la finalidad

de observar si existía variación en las metodologías con respecto a las cantidades y tipos de animales utilizados para la experimentación in vivo.

La Tabla XII contiene información del modelo animal utilizado en cada una de las referencias tomadas, así como el número de animales utilizados. De las 19 publicaciones en 5 de ellas no fue posible encontrar el número exacto de especímenes utilizados, o se optó por extraer la sección del ojo a estudiar y realizar experimentación in vitro.

Tabla XII. Número de especímenes empleados en cada estudio de las referencias consideradas, así como el tipo de modelo animal empleado.

No. de Animales	Modelo Animal	Referencia
18	Conejos Albinos	1
5	Conejos Albinos	2
3	Conejos Albinos	3
4	Conejos Albinos	4
3	Conejos Albinos	5
10	Conejos Albinos	6
6	Conejos Albinos	7
6	Conejos Albinos	8
Desconocido*	Conejos Albinos	9
Desconocido*	Conejos Albinos	10
Cultivos**	Muestras Porcinas	11
18	Conejos Albinos	12
7	Conejos Albinos	13
6	Conejos Albinos	14
20	Conejos Albinos	15
16	Conejos Albinos	16
9/10	Conejos Albinos	17
Cultivos**	EPR - Humano	18
Desconocido*	Conejos Albinos	19

* Se refiere a que no fue posible encontrar el número de conejos utilizados ya que no venían en la sección del resumen y fue imposible descargar el artículo entero para verificarlo.

** Se refiere a que se utilizaron muestras cultivadas en laboratorio, es decir, la experimentación se pensó in vitro.

Descartando aquellas referencias que no dicen el número de animales usados o que se optó por la experimentación in vitro quedan solo 14 referencias, las cuales se presentan en la figura 48; en ella se visualiza la amplia diferencia entre las 14 referencias en la cantidad de especímenes propuestos para sus respectivos ensayos (máx. 20 y min. 3). Como punto de

referencia se puede considerar el promedio de todas ellas, que es igual a 9,35 con una desviación estándar de 6,04. Con esto, se puede justificar que utilizar 9 o 10 conejos por cada ensayo es aceptable para obtener resultados estadísticamente buenos.

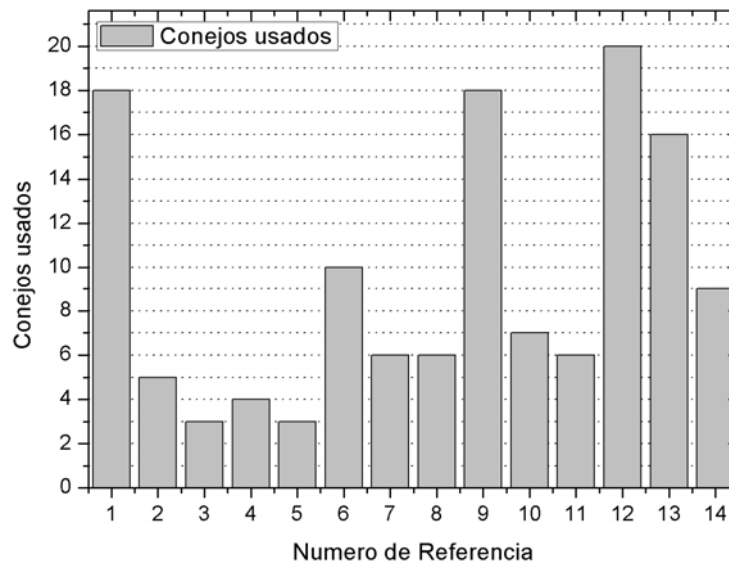


Figura 48. Relación de la cantidad de especímenes utilizados en cada referencia considerada para los ensayos pertinentes.

Particularmente en este proyecto, puesto que las intenciones serían ver estudios de toxicidad, funcionalidad de las tecnologías y éxito de la metodología quirúrgica utilizada a lo largo de un mes cada ensayo, se optó por la utilización de 9 o 10 conejos albinos neozelandeses.

De lo anterior se puede concluir que para la elección de un modelo animal se deben contemplar cuatro factores:

- propiedades, características o funcionalidades que se deseen estudiar,
- si se requiere mantener vivo el animal por periodos largos de tiempo,

- anatomía y funcionalidad similares al ojo humano en concordancia con el primer punto, y
- coste de mantenimiento de los animales.

6.7.4 Biocompatibilidad de materiales

Los ensayos de biocompatibilidad fueron realizados en el Hospital Universitario Ramón y Cajal siguiendo la metodología que a continuación se presenta.

Se usaron 27 conejos albinos neozelandeses, tres grupos de nueve conejos. El primero de ellos serían sacrificados todos los conejos a la semana (1S). El segundo grupo al mes (1M), y el tercer grupo a los dos meses (2M). En todos los conejos el ojo derecho fue el control y el izquierdo el experimental. Los ensayos se llevaron a cabo en el animalario del Hospital, donde se tiene un cuarto para cirugía y otro de revisiones. Además, se cumplió con la normativa vigente de manejo de residuos biológicos para entidades sanitarias y el trato de animales con fines científicos de acuerdo con la Tabla XIII. Así mismo, el estudio contó con la aprobación del CEBA (Comité Ético de Bienestar Animal).

Tabla XIII. Normativa vigente en España para la experimentación con animales en hospitales.

Normativa	Descripción breve	Dirección de Consulta
RD 1201/2005	Sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, transpone y desarrolla la Directiva 86/609/CEE.	http://www.boe.es/boe/dias/2005/10/21/pdfs/A34367-34391.pdf
Ley 32/2007	Para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.	http://www.observatorioreligion.es/upload/69/70/Ley_32-2007_Cuidado_Animales.pdf
NTP 372	Esta Nota Técnica de Prevención expone los métodos adecuados para el tratamiento de los residuos sanitarios producto de la actividad sanitaria, como los generados en los centros, servicios y establecimientos de protección de la salud y atención sanitaria y sociosanitaria, así como también en los centros y servicios	http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/301a400/ntp_372.pdf

veterinarios asistenciales, laboratorios y centros de investigación que generen residuos que por sus características sean asimilables a los sanitarios, con la finalidad de garantizar la salud pública, la defensa del medio ambiente y la preservación de los recursos naturales.

Por otro lado, el ferrofluido utilizado fue el mencionado en el apartado 6.7.2.1 de Chemicell, con concentración de 200 mg/ml, núcleo de maghemita y recubrimiento de silicio no poroso. La cantidad insertada fue de 50 µl en cavidad vítrea y 30 µl en cámara anterior. Lo anterior solo tuvo que ver con la zona donde se colocaría (cavidad vítrea o cámara anterior), ya que el espacio disponible en el primero es mayor que en el segundo.

Las cantidades de ferrofluido se dispusieron como sigue: 50 µl en cavidad vítrea de 6 de los nueve conejos, y 30 µl en cámara anterior de los tres restantes para cada grupo propuesto. Además, cada grupo de 6 conejos se subdividió aleatoriamente en dos grupos de 3 conejos. Uno de estos grupos fue conducido a estudios anatomopatológicos con diferentes tinciones y el otro a cromatografía líquida de alta velocidad para determinar los niveles de taurina y otros aminoácidos en células retinianas.

El esquema de estudio se muestra a continuación:

- Grupo I: sacrificio a la semana (9 conejos). Revisión a las 24 horas y a la semana de la inyección.
 - 1) Inyección cámara anterior (3 conejos)
 - 2) Inyección en cavidad vítrea (6 conejos)
 - i. Estudio anatomopatológico (3 conejos)
 - ii. Estudio aminoácidos (3 conejos)

- Grupo II: sacrificio al mes (9 conejos). Revisión a las 24h, a la semana y al mes de la inyección.

- 1) Inyección cámara anterior (3 conejos)

- 2) Inyección en cavidad vítrea (6 conejos)

- i. Estudio anatomopatológico (3 conejos)

- ii. Estudio aminoácidos (3 conejos)

- Grupo III: sacrificio a los 2 meses (9 conejos). Revisión a las 24 horas a la semana, al mes y a los 2 meses de la inyección.

- 1) Inyección cámara anterior (3 conejos)

- 2) Inyección en cavidad vítrea (6 conejos)

- i. Estudio anatomopatológico (3 conejos)

- ii. Estudio aminoácidos (3 conejos)

La inserción del ferrofluido se realizó con una jeringa 30G y con el conejo anestesiado. Ésta se administra intramuscularmente, en bíceps femoral, permitiendo mantener al conejo anestesiado por 30 minutos, tiempo suficiente para realizar la exploración oftalmológica, la inyección del ferrofluido y, dependiendo del día, el afeitado y tutorización de la vena marginal de la oreja para la eutanasia. Durante todo el proceso el conejo permanece en respiración espontánea. La figura 49 muestra en a) las jeringas conteniendo el ferrofluido, y en b) el conejo anestesiado al cual se le insertará el ferrofluido.

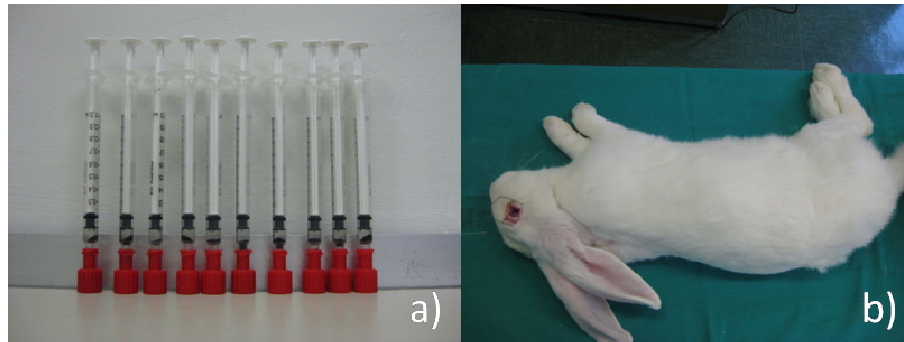


Figura 49. Preparación del ensayo de toxicidad con animales. En a) las jeringas con 50 µl de ferrofluido, y en b) el conejo anestesiado.

Posteriormente se inyectó el ferrofluido en el interior del globo ocular a través de la esclerótica de acuerdo al esquema de diseño. La figura 50 presenta una secuencia de imágenes de la inserción del ferrofluido en la parte anterior del ojo, en a) la preparación del conejo para ser inyectado, en b) el acercamiento de la aguja que contiene el ferrofluido, en c) la inserción de la aguja hacia la cámara anterior del ojo, y en d) la extracción de la aguja después de liberar las partículas magnéticas.

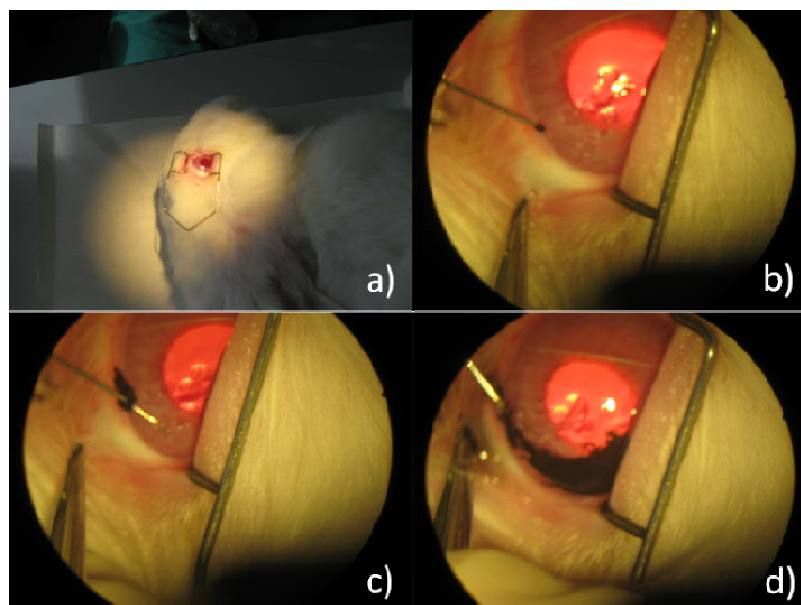


Figura 50. Secuencia de imágenes que muestran la inserción del ferrofluido en la cámara anterior del ojo del conejo. En a) la preparación del conejo para ser inyectado, en b) el acercamiento de la aguja que contiene el ferrofluido, en c) la inserción de la aguja hacia la cámara anterior del ojo, y en d) la extracción de la aguja después de liberar las PMs.

Durante todo el estudio se realizó seguimiento oftalmológico de los conejos con el fin de evaluar posibles anomalías posteriores a la inserción del ferrofluido. Las exploraciones se realizaron bajo el siguiente protocolo:

1. Valoración de las pupilas del animal, morfología y tamaño.
2. Exploración del segmento anterior empleando una lámpara de hendidura (LH) Zeiss 10 LS.
3. Valoración de la presión intraocular (PIO) ayudados por un TonoPen (MedtronicSolan) y la colocación de clorhidrato de oxibupacaina y tetracaina (Anestésico Doble®).
4. Oftalmoscopia indirecta tras dilatación de pupilas del conejo con una gota de tropicamida.

La exploración se realizó antes de la inserción del ferrofluido en el globo ocular, a las 24 horas y a la semana en todos los grupos, al mes en el grupo 1M, y a los dos meses en el grupo 2M. La finalidad de cada exploración propuesta fue, en la primera la identificación de la existencia de miosis⁸ relativa en el ojo, signo de inflamación del segmento anterior del ojo. En el segundo, valoración de la hiperemia conjuntival⁹, quemosis¹⁰, existencia de "tatuaje escleral" en la zona de inyección de las PMs, la transparencia corneal así como la existencia de úlceras corneales, la presencia de Tyndall¹¹, flare¹² o

⁸ Contracción de la pupila del ojo.

⁹ Hiperemia Conjuntival: enrojecimiento del ojo.

¹⁰ Quemosis: signo de irritación del ojo en la cual la cubierta externa del ojo luce como si tuviera líquido dentro de ella.

¹¹ Fenómeno de Tyndall: células flotando en el humor acuoso

¹² Dispersión de la luz de una lámpara de hendidura cuando el haz se dirige hacia el interior de la cámara anterior como consecuencia de un aumento del contenido de proteínas y de células inflamatorias en el humor acuoso.

membranas de fibrina¹³ en cámara anterior, la presencia o no del ferrofluido y su distribución, la hiperemia del iris¹⁴ o la existencia de neovasos, y el desarrollo de catarata. El tercero, permite evaluar la evolución de la PIO en los ojos de los conejos a lo largo del tiempo para su comparación y análisis posterior. Finalmente, el cuarto punto permite observar el fondo de ojo para valorar si la retina está aplicada, la existencia de vitritis¹⁵ o fibrina en cámara posterior, si las partículas magnéticas están dispersas o bien si tienden a agregarse, así como su localización.

A nivel funcional, un indicativo de la intolerancia de los materiales introducidos en el ojo de los conejos es la comparación de la evolución de la PIO a través del tiempo en el ojo de control y experimental (derecho e izquierdo, respectivamente), es decir, si la PIO en los ojos derechos fuera más constante que la de los ojos izquierdos, entonces indicaría que los materiales seleccionados son inapropiados para la aplicación propuesta.

El primer paso para analizar la PIO es el establecimiento de una referencia estadística acerca de la PIO normal en ojos de conejo albino neozelandés. Ésta se puede extraer del trabajo desarrollado en [Medrano-Palafox et al., 2010], publicación sobre la medición de la PIO con un tonómetro Goldman en 860 conejos neozelandeses. El resultado fue que este tipo de conejo tiene de media

¹³ Globulina filamentosa insoluble, blancuzca y elástica, que se deposita por coagulación espontánea de la sangre, de la linfa y de ciertos exudados. Los filamentos forman una red cuyos nudos están constituidos por agregados de plaquetas: la trombosteína de éstas provoca la retracción del coágulo. La fibrina se forma a expensas del fibrinógeno, gracias a la acción de la trombina.

¹⁴ Hiperemia del Iris: enrojecimiento del iris.

¹⁵ Vitritis: inflamación del cuerpo vítreo.

una PIO de $9,0 \pm 1,3$ mmHg. Este valor marcará de ahora en adelante la evolución de la PIO en la experimentación in vivo.

Entonces, para cada conejo de los tres grupos propuestos se consideraron las presiones intraoculares (PIOs) de cada ojo, izquierdo y derecho, en: preoperatorio, 1 día, 1 semana, 1 mes y 2 meses que equivalen a 0, 24, 168, 672 y 1344 hrs, respectivamente. Las figuras 51, 52 y 53 presentan las PIOs de los grupos 1S, 1M y 2M, respectivamente; en a) para los ojos derechos y en b) para los ojos izquierdos teniendo en consideración la referencia de 9.0 ± 1.3 mmHg. En todas ellas se observa que no hay una tendencia evolutiva definida de las PIOs en el tiempo que ha durado el ensayo, e inclusive la variación entre cada ojo de conejo a un mismo tiempo es sustancial. Este hecho hace que no sea evidente un análisis de los datos obtenidos, por lo que hacer una aproximación usando estadística puede ayudar a la evaluación final.

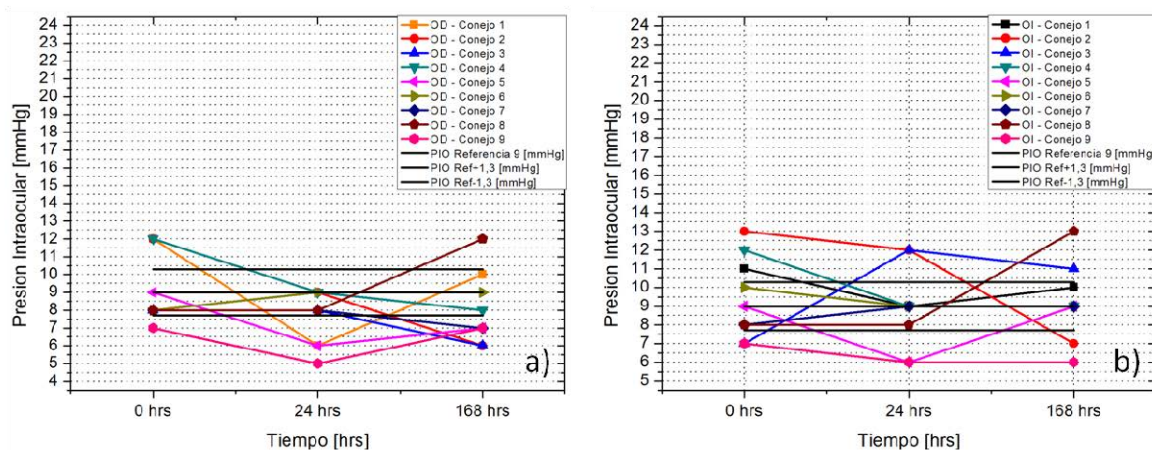


Figura 51. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos del grupo 1S: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.

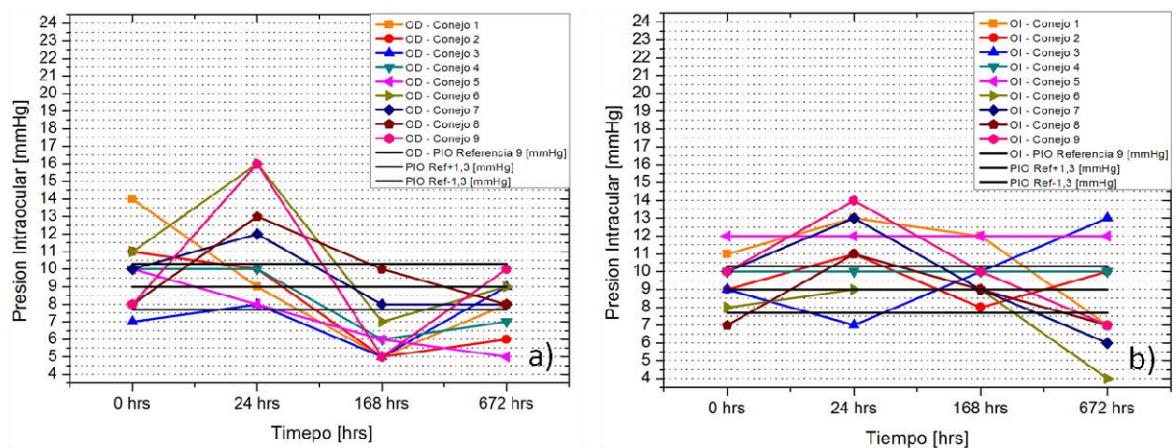


Figura 52. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos del grupo 1M: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.

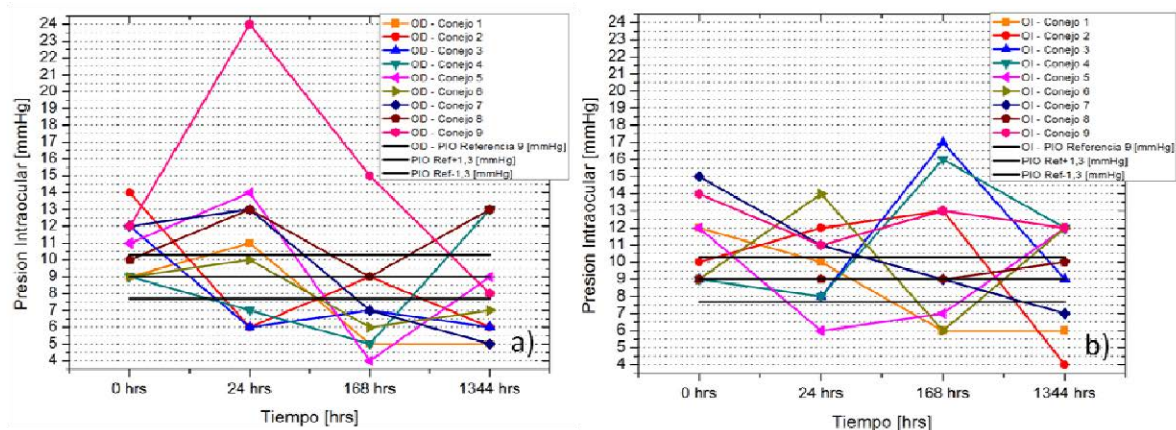


Figura 53. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos del grupo 2M: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.

Para saber cuál es la herramienta estadística que proporciona la mejor información se deben conocer los datos que se tienen y el objetivo final de la evaluación. Aunque la media estadística normalmente es un dato que proporciona mucha información, para este caso no resulta tan útil; ya que la cantidad de datos a analizar son escasos. Las figuras 54, 55 y 56 muestran los valores medios con su respectiva desviación estándar, en a) los ojos derechos y en b) los ojos izquierdos de los grupos 1S, 1M y 2M, respectivamente. Se puede observar que cuando se usan pocos datos, si existe algún valor que se separa

mucho hacia arriba o hacia abajo del valor central, éste conlleva a que el valor medio de todos los datos tienda a acercarse a ese valor extremo. Puesto que los datos contenidos en este análisis son 9 por cada periodo de tiempo, y debido a la aleatoriedad de la información, la incertidumbre asociada a cada valor medio encontrado es en ocasiones el doble de la referencia.

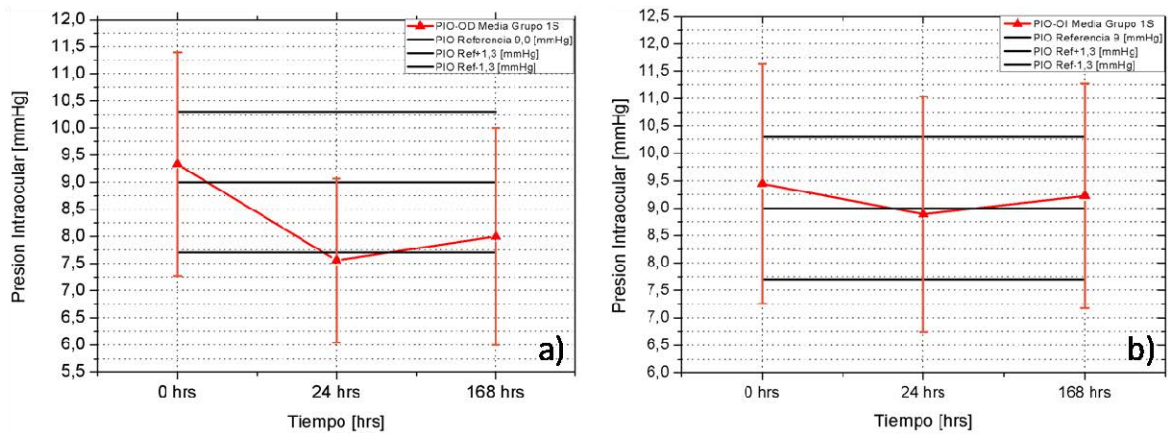


Figura 54. Evolución del valor medio de la PIO y la desviación estándar para los conejos del grupo 1S en a) los ojos derechos, y en b) los ojos izquierdos.

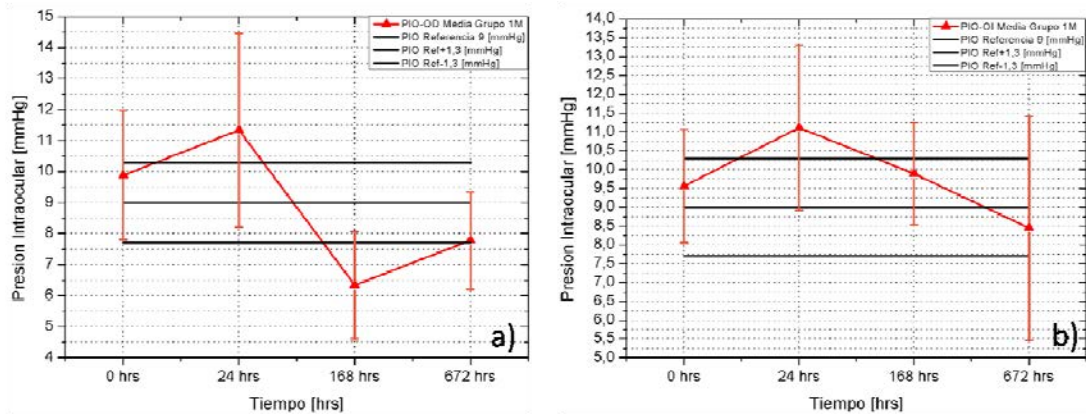


Figura 55. Evolución del valor medio de la PIO y la desviación estándar para los conejos del grupo 1M en a) los ojos derechos, y en b) los ojos izquierdos.

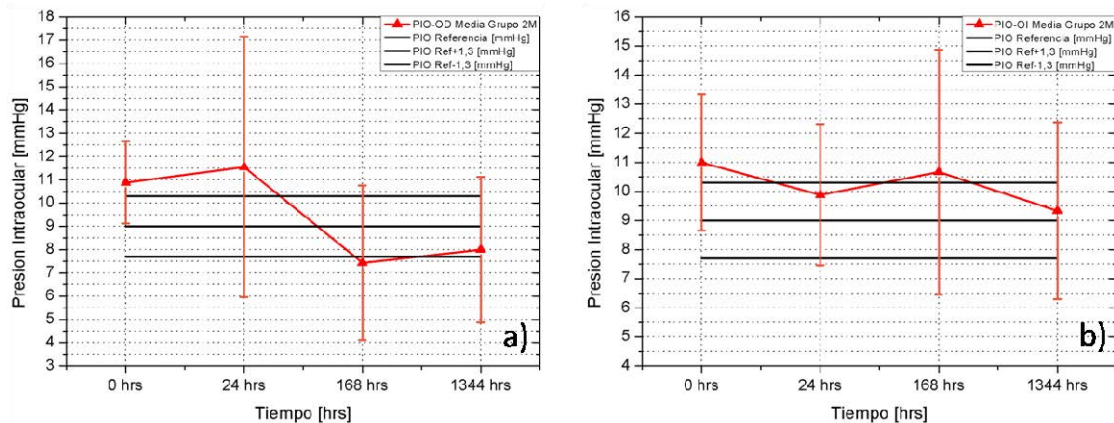


Figura 56. Evolución del valor medio de la PIO y la desviación estándar para los conejos del grupo 2M en a) los ojos derechos, y en b) los ojos izquierdos.

Estos resultados evidencian que la obtención del valor medio de la PIO en cada grupo y ojo, únicamente favorece un análisis evolutivo ya que la incertidumbre es muy grande. Si graficamos el valor medio de los ojos derechos para cada grupo se obtiene la figura 57, en la cual se observa que la evolución a las 24 hrs no es similar en los tres grupos, sin embargo esta aleatoriedad puede atribuirse al estrés sufrido durante la intervención para la colocación del ferrofluido, que hace reaccionar el sistema inmunológico en ambos ojos; dicha respuesta en los conejos neozelandeses es agresiva [Tsonis, 2008]. El resultado de lo anterior es una HTO en los grupos 1M y 2M, y PIO baja en el grupo 1S; todos ellos fuera de los límites de referencia, ya sea por encima (1M y 2M) o por debajo (1S). Es durante la ventana temporal semanal que se puede identificar que el comportamiento de la PIO en los tres grupos tiene semejanzas, y es más evidente en los grupos 1M y 2M por su temporalidad larga. En ellos se presenta una baja de la PIO pronunciada durante la primera semana por debajo de los niveles de referencia. A partir de ese punto, ambos grupos (1M y 2M) tienen una subida constante de la PIO que inclusive ya al

mes alcanza el nivel de referencia más bajo y pudiera intuirse que la tendencia es que la PIO regrese a su normalidad, es decir, que ya no existirían cambios abruptos en ninguno de los grupos si se dejaran más tiempo.

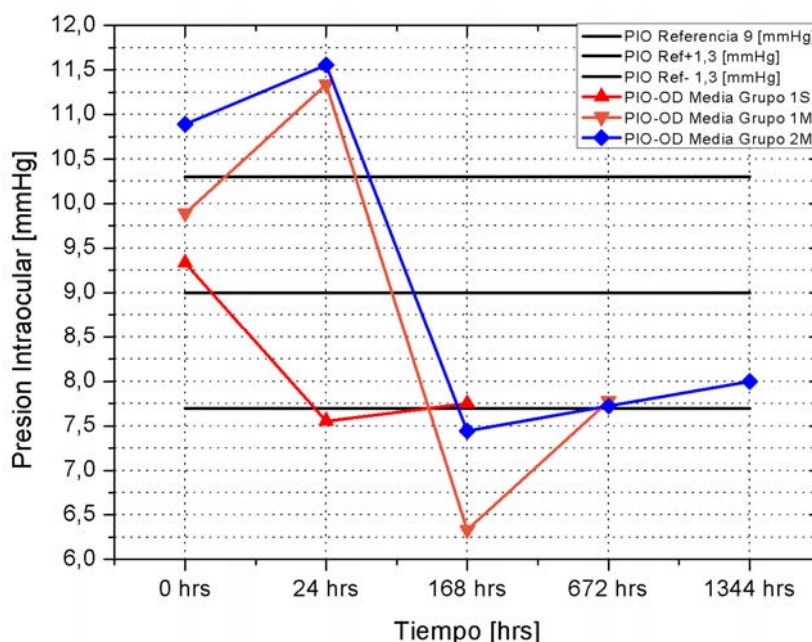


Figura 57. Tendencia evolutiva del valor medio de las PIOs de los ojos derechos en los conejos de los grupos 1S, 1M y 2M.

De manera similar, la figura 58 muestra la tendencia evolutiva del valor medio de las PIOs de los ojos izquierdos en los tres grupos. A diferencia de los ojos derechos, los grupos 1S y 2M parecen tener una similitud en su evolución, presentando una baja en la PIO en las primeras 24 horas con una subida de ésta a la semana de haberles introducido el ferrofluido, y finalmente el grupo 2M vuelve a bajar su PIO llegando cerca de la referencia principal de 9 mmHg. El grupo 1M se diferencia de los otros dos grupos únicamente en que a las 24 horas los conejos en su mayoría presentaron HTO, pero pasada la semana su comportamiento es similar al que tuvieron los conejos del grupo 2M. Por tanto,

se podría intuir que en los tres grupos habría un proceso de estabilización de los valores de las PIOs si éstas se siguieran evaluando más tiempo.

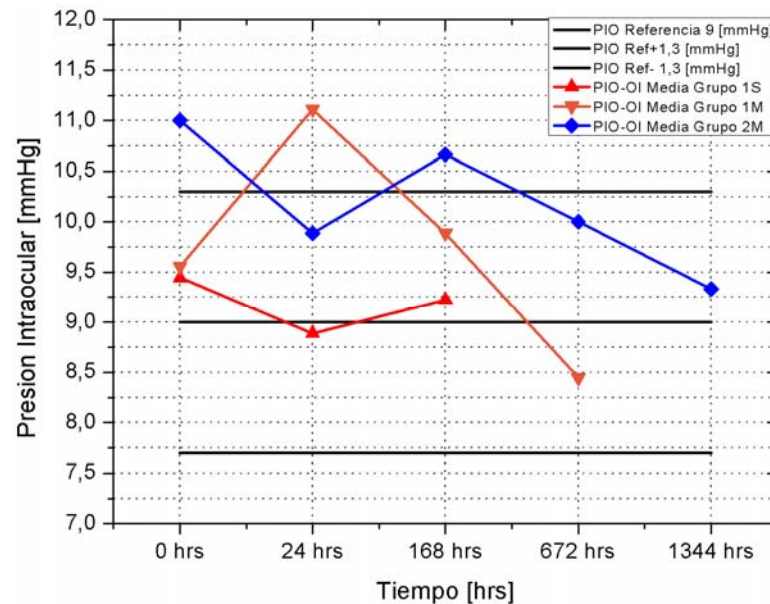


Figura 58. Tendencia evolutiva del valor medio de las PIOs de los ojos izquierdos en los conejos de los grupos 1S, 1M y 2M.

Cuando se tienen pocos datos el uso de la mediana estadística es recomendable como apoyo para el análisis, ésta cuando se tiene un número de datos impar es igual al valor del dato central, y cuando son par equivale a la media de los dos datos centrales. La mediana aporta información de la tendencia general de las PIOs a ocupar el rango de referencia propuesta. Para tal fin, se muestra en primera instancia la figura 59, en la cual se grafica la mediana para los ojos derechos de los conejos de los tres grupos. En ella se observa que la mediana no es afectada por los valores extremos, y en consecuencia los resultados estadísticos favorecen la posición que tendría el valor de la PIO con respecto a la referencia de 9 ± 1.3 mmHg. Los resultados para los ojos derechos muestran que a excepción del grupo 2M, cuyos valores están 0.7 mmHg por encima de la referencia superior, los otros dos grupos (1S

y 1M) permanecen dentro de los límites establecidos hasta el primer día. Después, los tres grupos tienen una caída de la PIO por debajo del límite inferior, 0.7 mmHg para los grupos 1S y 2M y 1,7 mmHg para el grupo 1M; y es destacable que esta caída en los grupos 1M y 2M es similar (4 mmHg). Finalmente, el grupo 1M termina dentro del espacio de referencia y el 2M mantiene su valor. Este grupo 2M durante todo el tiempo que duró el ensayo no tuvo ningún punto dentro de las referencias.

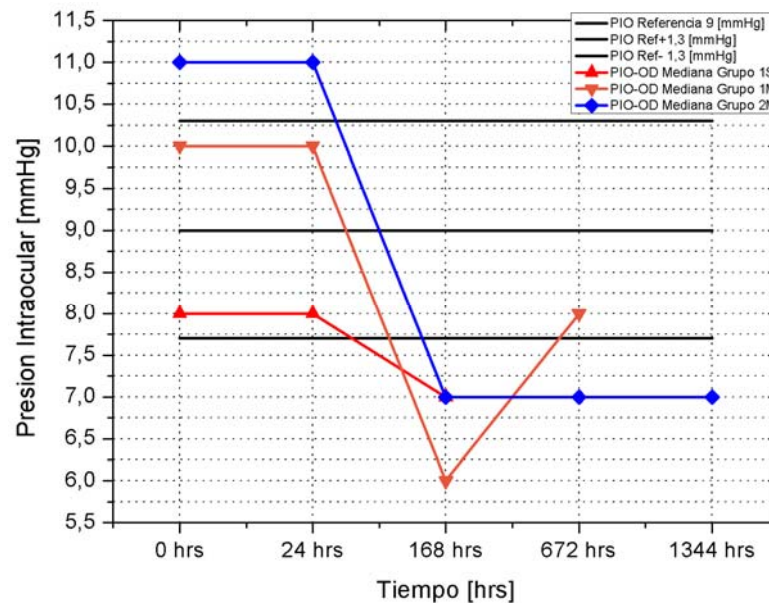


Figura 59. Gráfica de comparación entre las medianas de la PIO en los ojos derechos de los conejos neozelandeses en los grupos 1S, 1M y 2M.

Siguiendo con el análisis correspondiente a las medianas de los ojos izquierdos de los conejos en los tres grupos se presenta la figura 60. En ella al inicio del ensayo se observa que únicamente el grupo 1M presenta una subida de la PIO por encima de la referencia superior de 0,7 mmHg al día 1, los otros dos grupos se mantienen en sus valores preoperatorios y dentro del espacio referencial. Después, a la semana los grupos 1M y 2M observaron una caída, en este caso menos abrupta que en los ojos derechos (1 mmHg), dejando en este

tiempo a todos los grupos dentro de la referencia. Es destacable que el grupo 1S no tuvo variaciones y estuvo ubicado en la referencia principal todo el tiempo. Finalmente, El grupo 1M tiene una caída de 3 mmHg, quedando por debajo de la referencia inferior (0,7 mmHg). En el caso del grupo 2M, éste terminó en su valor inicial de 10 mmHg y dentro de los valores permitidos.

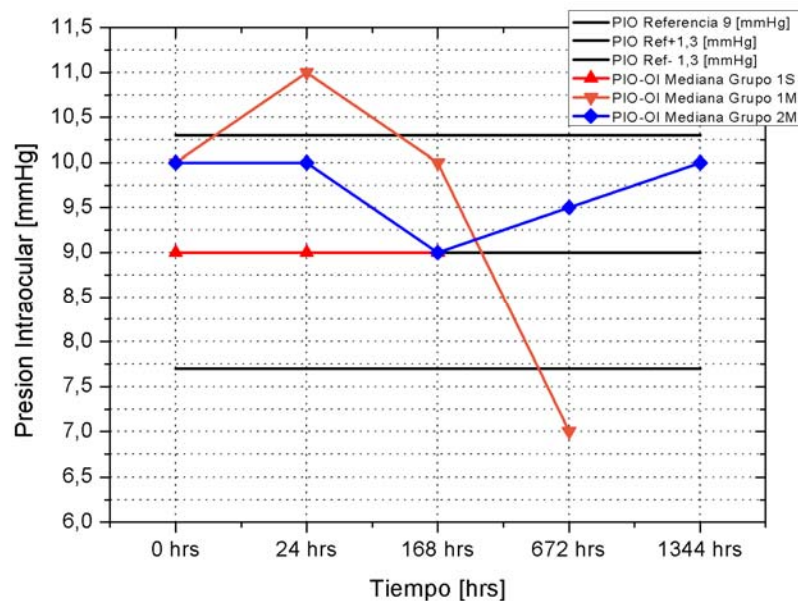


Figura 60. Gráfica de comparación entre las medianas de la PIO en los ojos izquierdos de los conejos neozelandeses en los grupos 1S, 1M y 2M.

Haciendo un análisis general entre ambos ojos, se identifica que las PIOs de los ojos operados se mantienen más en el espacio de referencia que las PIOs de los ojos derechos: 5 de 11 puntos en ojos derechos y 2 de 11 puntos en ojos izquierdos están fuera de referencia. Lo anterior lleva a la conclusión de que *el comportamiento general de las PIOs de los ojos izquierdos es mejor que la de los ojos sanos, por tanto el ferrofluido no causa comportamientos anómalos en cuanto a PIO se refiere.*

Continuando con la evaluación de biocompatibilidad, los conejos se revisaron empleando un oftalmoscopio, el cual permite ver el fondo del ojo.

Para los conejos con el ferrofluido en cámara vítrea se observó vitritis leve alrededor del compuesto, buena agregación, y particularmente en los conejos del grupo 1M fibrina¹⁶ a la semana de la inyección. Por otro lado, aquellos conejos con el ferrofluido en la cámara anterior presentaron bastante inflamación en un inicio pero con buena recuperación. La figura 61 muestra dos imágenes tomadas al microscopio, en a) el ferrofluido visto por encima del ojo, y en b) un acercamiento del ferrofluido acomodado dentro del globo ocular. En el inciso b) de la figura 61 se observa perfectamente la aglomeración del ferrofluido en la cavidad vítrea. Este hecho sorprendió porque se esperaba que se dispersara en vítreo.

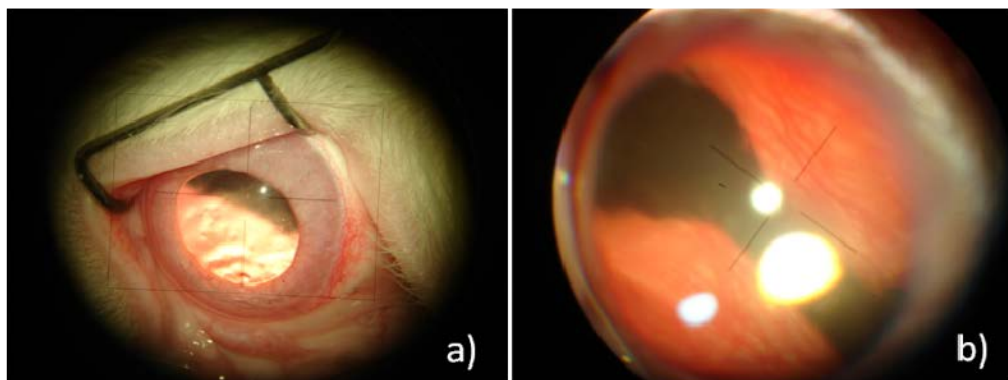


Figura 61. Imágenes tomadas con microscopio de, a) el ferrofluido visto por encima del ojo, y b) un acercamiento del ferrofluido acomodado dentro del globo ocular.

Finalmente, tras la extracción de ambos ojos de 3 de los conejos de cada grupo, el izquierdo fue intervenido. Se hizo una incisión en córnea y se extrajo el cristalino para dejar libre el paso hacia la cavidad vítrea, una vez ahí se exprimíó el ojo con la consecuente salida del cuerpo vítreo y retina para tomar muestras de ésta última. La figura 62 es una secuencia de imágenes en la que se puede observar el procedimiento seguido para la toma de las muestras de

¹⁶Fibrina: filamentos semisólidos provenientes de la acción de coagulación.

retina, en a) la incisión para separar la córnea, en b) los cortes realizados para extraer la córnea, en c) cortes realizados para tener acceso a la cavidad vítrea, en d) el ojo exprimido para sacar el cristalino y cuerpo vítreo, en e) la extracción del cristalino a cielo abierto, y en f) la toma de la muestra de retina. Las muestras de retina fueron congeladas a -40°C para su posterior estudio.

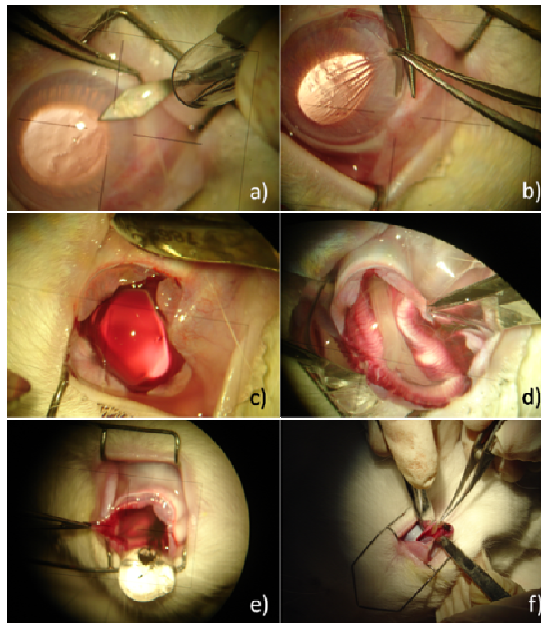


Figura 62. Secuencia de imágenes en la que se observa el procedimiento seguido para la toma de muestra de retina, en a) la incisión para separar la córnea, en b) los cortes realizados para extraer la córnea, en c) cortes realizados en el cuerpo ciliar para tener acceso a la cavidad vítrea, en d) el ojo exprimido para sacar el cristalino y cuerpo vítreo, en e) la extracción del cristalino a cielo abierto, y en f) la toma de la muestra de retina.

Al final del proceso explicado arriba, cuando el cuerpo vítreo salió del globo ocular lo hizo también el ferrofluido, encontrándose que éste estaba envuelto en una membrana vítrea que impedía la difusión del material ferroso en el globo ocular. La figura 63 es un acercamiento al ojo izquierdo de uno de los conejos escogidos para la toma de muestra de retina. En ella se puede identificar la mayoría del ferrofluido encapsulado por la membrana. Se dice la

mayoría porque durante la extracción del cuerpo vítreo suele romperse dicha membrana por su delicadeza.

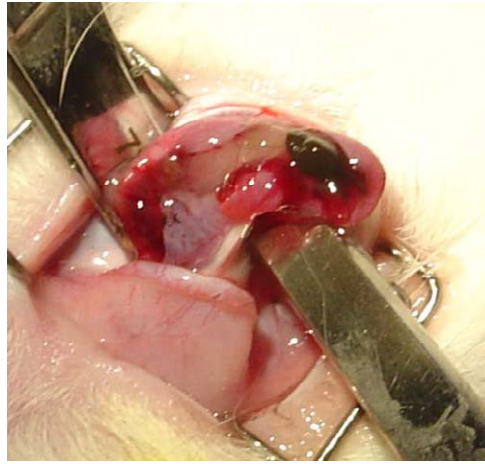


Figura 63. Acercamiento al ojo del conejo utilizado para la toma de muestra de retina, en la cual se observa el ferrofluido encapsulado en una membrana.

Además, esta respuesta natural del ojo ante la presencia de cuerpos extraños en él, interfirió con la posible salida de las PMs a través del flujo sanguíneo o la posible infiltración masiva sobre retina, coroides y esclerótica. Lo anterior se observó en los resultados anatomopatológicos preliminares obtenidos del grupo 1S y que se han extendido a los resultados de los otros dos grupos, donde en propias palabras de los médicos que hicieron la histopatología se expuso que: *no se observan infiltrados inflamatorios en muestras 8 y 9 en cuerpo vítreo, algo de inflamación en cámara anterior. En el resto de las muestras, infiltrado inflamatorio leve-moderado en cuerpo vítreo. En algunas muestras, se observan también algunas células inflamatorias en la capa limitante interna de la retina, más raramente en la capa ganglionar, aunque la infiltración es en cualquier caso escasa. Componente inflamatorio más abundante en cámara vítrea: monocitos-macrófagos y linfocitos, aunque*

también se observan neutrófilos. En retina, fundamentalmente monocitos y algunos linfocitos. Finalmente, no se observan signos evidentes de neurodegeneración en ninguna de las muestras.

Lo anterior lo confirman los resultados anatomopatológicos presentados en la figura 64, que corresponden a los estudios hechos en los conejos 8 y 9 del grupo 1S. En ella los incisos a) y b) corresponden al ojo derecho e izquierdo del conejo 8, y c) y d) igualmente ojo derecho e izquierdo del conejo 9. Comparativamente se observa que ninguno de los ojos de control (derechos) contiene infiltraciones como las identificadas en los ojos izquierdos y existen más existe una mayor cantidad de éstas en la muestra tomada del conejo 9 que en la del conejo 8.

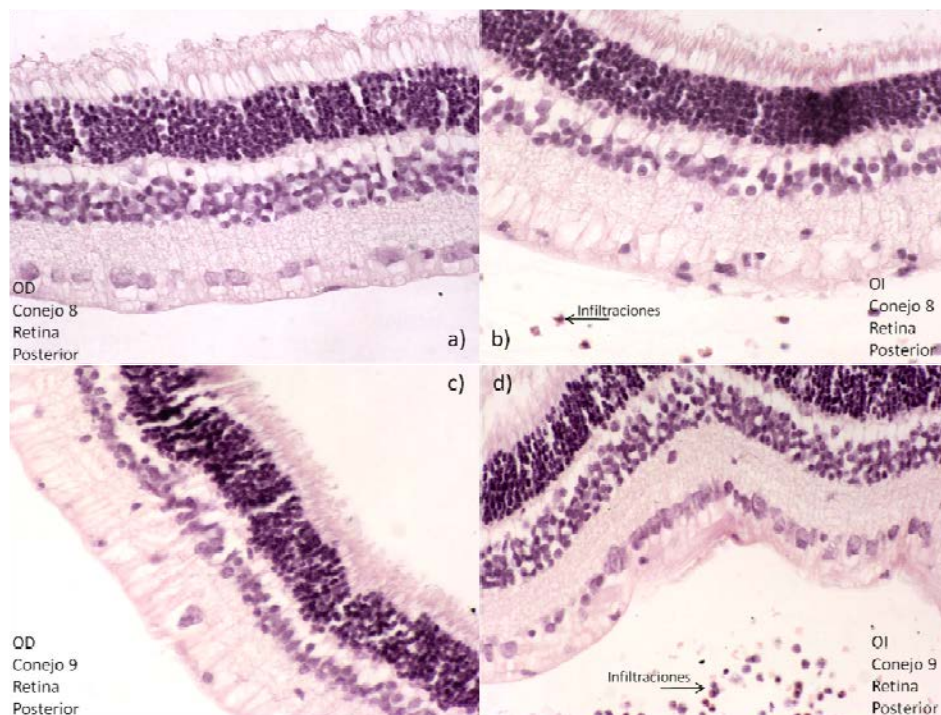


Figura 64. Resultados anatomopatológicos de las muestras de retina tomadas de los conejos 8 y 9 del grupo 1S. Los incisos a) y b) corresponden a la muestra del conejo 8, ojo derecho e izquierdo, respectivamente; y c) y d) a la muestra del conejo 9, ojo derecho e izquierdo, respectivamente.

Por otro lado, también resultado de los estudios anatomopatológicos, se encontró una aglomeración importante de PMs en la sección donde se inyectó el ferrofluido a lo largo del camino que siguió la jeringa a través de la esclerótica, coroides y retina, e incluso se depositaron sobre la retina por la parte intraocular. Así mismo, existió una activación de los procesos ciliares que indican la recuperación del ojo en dicha sección, esto se puede comprobar en la figura 65 donde se ve la deposición del ferrofluido a través de esclerótica, coroides, retina y la parte interior del globo ocular debido a la inyección. La marca que dejó el paso de la jeringa los médicos oftalmólogos decidieron darle el nombre de "Tatuaje".

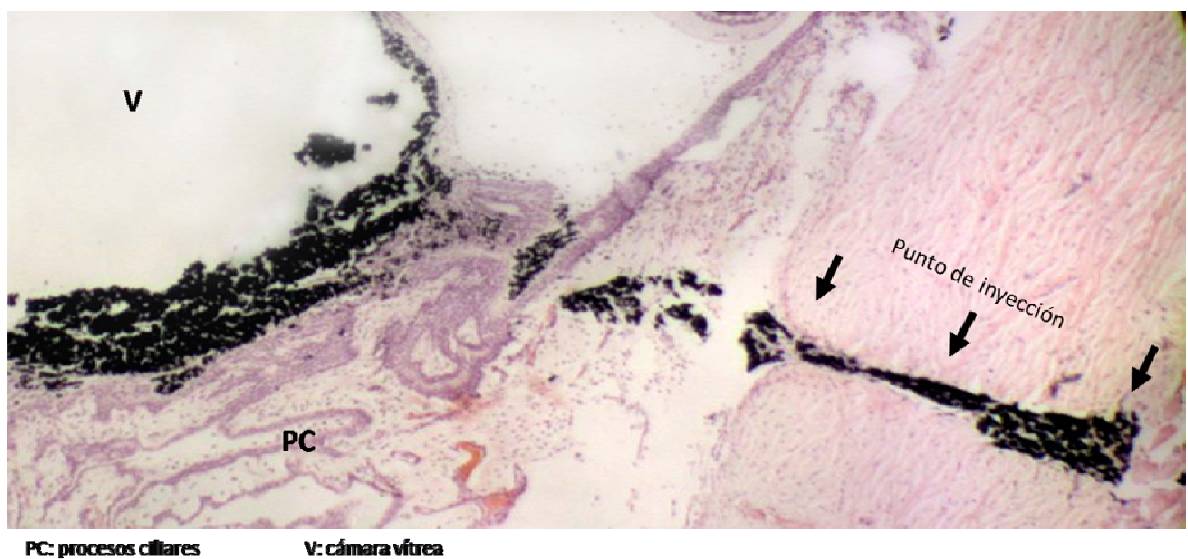


Figura 65. Deposición del ferrofluido a través de esclerótica, coroides y retina, debido a la inyección.

Finalmente, otro objetivo de la extracción de retina era la cuantificación de los niveles de la Taurina. La Taurina es un aminoácido azufrado no proteinogénico abundante en el cuerpo humano sintetizado principalmente en hígado y cerebro, pero también se ha descubierto su presencia en corazón, retina, músculo esquelético y sistema nervioso central. Entre otras cosas se

presume que actúa como modulador e inhibidor de neurotransmisores en el cerebro, que permite mover iones de sodio, potasio, calcio y magnesio dentro y fuera de las células, además de mantener la correcta composición de la bilis y la solubilidad del colesterol. Por otro lado, se ha descubierto que tiene efectos sobre los niveles de azúcar sanguíneos similares a los de la insulina. Es necesaria para las reacciones químicas producidas en la visión normal, y su déficit está asociado a la degeneración retinal. Además de proteger la retina, ayuda a prevenir las cataratas relacionadas con la edad y sus bajos niveles de taurina están relacionados con la hipertensión.

El nivel de Taurina encontrado en los tres grupos 1S, 1M y 2M se muestran en la tabla XIV. De ella se puede extraer que el nivel de Taurina comparativamente entre el ojo derecho e izquierdo, en el grupo 1S, del conejo 4 es de 36.97 nmoles/mg más en el izquierdo, en el conejo 5 es de 11784.6 nmoles/mg más en el izquierdo y para el conejo 7 hay 13877.25 nmoles/mg más en el derecho. Por otro lado, en el grupo 1M las diferencias fueron como sigue: en el conejo 4 hubo 2650.42 nmoles/mg más en el izquierdo, para el conejo 5 fue de 693.64 nmoles/mg más en el izquierdo y 133.4 nmoles/mg más en el derecho del conejo 6. Finalmente para el grupo 2M las diferencias fueron de 3419.09 nmoles/mg más en el ojo izquierdo del conejo 1, 358.94 nmoles/gr más en el izquierdo del conejo 5 y 1230.52 nmoles/mg más en el derecho del conejo 6. Lo más destacable de la tabla XIV es que en dos de cada tres conejos la taurina se aumentaba más en los ojos izquierdos que en los derechos, y teniendo el conocimiento previo de que el incremento de esta encima se asocia

a una mejora sustancial en la retina se podría intuir que efectivamente un aumento sustancial en la producción de la taurina ayuda a la regeneración eficaz de dicha membrana neurosensorial; pero esto no es concluyente ya que hubo un caso en cada grupo que el aumento se dio en el ojo derecho. Asociado al incremento de la taurina en el ojo izquierdo, en los casos de los conejos 4 y 5 del grupo 1M se observa que la PIO durante todo el ensayo se mantuvo constante, este hecho también podría ser indicativo de que los ojos se mantienen en buen estado cuando se activa la taurina; sin embargo tampoco es concluyente por la falta de homogeneidad de los resultados obtenidos.

Tabla XIV. Nivel de taurina encontrado en la retina de los conejos seleccionados en cada uno de los tres grupos 1S, 1M y 2M.

GRUPO I	Conejo/Ojo	Nivel de Taurina (nmoles totales/mg de proteína total)
	4D	155.32
	4I	192.29
	5D	333.8
	5I	12118.4
	7D	16318.14
	7I	2440.89
GRUPO II	Conejo/Ojo	Nivel de Taurina (nmoles totales/mg de proteína total)
	4D	512.7
	4I	3163.12
	5D	671.69
	5I	1365.33
	6D	927.9
	6I	794.5
GRUPO III	Conejo/Ojo	Nivel de Taurina (nmoles totales/mg de proteína total)
	4D	1560.93
	4I	4980.02
	5D	1925.01
	5I	566.07
	6D	1574.24
	6I	2804.76

El análisis de los resultados obtenidos en los tres grupos de conejos lleva a concluir que: la evolución de la PIO obtenida en los ojos de experimentación (izquierdos) de los conejos de los tres grupos tiene una tendencia a la estabilización, y es más visible conforme pasa el tiempo, es decir, es más evidente en el grupo 2M. Esto permite intuir que el ferrofluido no tiene efectos negativos sobre dicho parámetro e inclusive podría ser benéfico si éste es el precursor del aumento de los niveles de Taurina, ya que dicho aumento ha dejado evidencia de que la retina tiene una mejor recuperación. Por otro lado, la evolución de la PIO en los ojos derechos es heterogénea e inclusive más aleatoria que la mostrada en los ojos izquierdos en todos los análisis hechos: valores reales, medias y medianas; por tanto comparativamente se puede decir que el ferrofluido no tiene una influencia directa en la PIO.

Por otro lado, las leves infiltraciones observadas en vítreo no pasaron a retina, coroides o esclerótica; esto enfatiza la importancia del tamaño de las partículas magnéticas para que no pasen través de ninguna de las capas antes mencionadas. Para terminar, el depósito de partículas magnéticas observado en el canal hecho por la jeringa al inyectar el ferrofluido, confirmó la necesidad de seguir la metodología sugerida desde un inicio para los ensayos completos: Vitrectomía vía pars plana; con la cual no hay contacto de la jeringa con ninguna de las tres capas ya que se utiliza una vía directa a la cavidad vítrea. Con todos los datos recabados, los médicos oftalmólogos concluyeron que los materiales escogidos no representaban una amenaza tóxica para los conejos.

6.7.5 Diseño y Fabricación del Sistema Ocular

El sistema ocular presentado en esta sección es un dispositivo que combina partículas magnéticas y un explante magnético sobre la esclerótica, útil como taponador retiniano y para el tratamiento postoperatorio de la cirugía ocular. Está comprendido en el sector técnico de las tecnologías sanitarias, más concretamente en micro y nanotecnologías, explantes para el cuerpo humano y sus aplicaciones biomédicas particularizando en aplicaciones biomédicas oftalmológicas. Aplica a la optimización y ayuda a procedimientos quirúrgicos oftalmológicos, así como a la mejora de las condiciones postoperatorias de los pacientes.

6.7.5.1 Partículas Magnéticas

La idea original sobre las partículas magnéticas idóneas surge del seno del LBN tras la propuesta hecha por los médicos oftalmólogos. Ésta se presenta en la figura 66, consistía en una partícula tipo “lenteja” en la que se pudiera incrustar material magnético perpendicularmente a la superficie de la partícula. De este modo se podría tener un control magnético de tal manera que al momento de interaccionar con el CME se colocaran homogéneamente sobre la superficie polar. Con esto se minimizaría el daño que pudiera ocasionar sobre la retina.

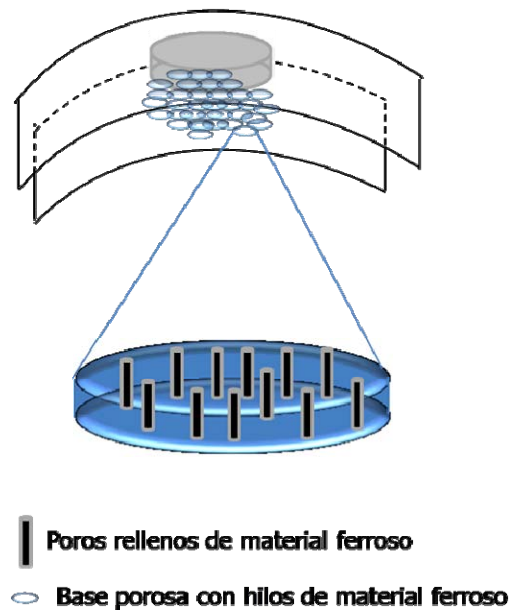


Figura 66. Partícula magnética propuesta para la corrección del desprendimiento de retina.

Con previo conocimiento de causa se invitó al Grupo del Dr. Miguel Manso del DFis-UAM. Este grupo ha desarrollado técnicas de producción de partículas basadas en silicio poroso a las cuales se les pueden incorporar en dichos poros materiales varios. El reto fue incrustar suficiente material magnético para que interaccionara con el explante.

Las partículas magnéticas solicitadas debían cumplir con los criterios siguientes: tamaño micrométrico, forma plana, magnetización suficiente para la interacción con el explante magnético y biocompatibilidad. Después de una ardua investigación de métodos y procesos para la obtención de las partículas, se lograron obtener "partículas tipo copo", que tienen forma lenticular, semejante a una escama, cuyas dimensiones en planta son del orden de 1 a 500 micras de longitud y de 1 a 10 micras en sección. La figura 67 muestra una fotografía tomada al microscopio de los copos obtenidos. Tras la obtención, fue necesaria la caracterización magnética de los copos.

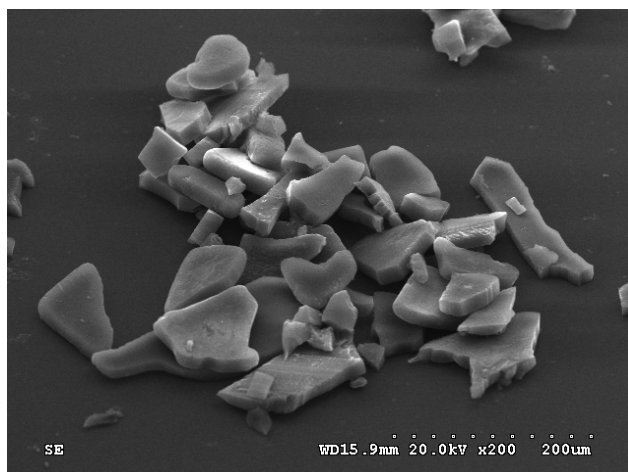


Figura 67. Fotografía al microscopio de los copos magnéticos obtenidos para la re-aplicación de la retina en la Universidad Autónoma de Madrid [cedida por el Dr. Álvaro Muñoz Noval].

Para fines del proyecto dos tipos de caracterizaciones cobraban especial interés: la caracterización magnética y la toxicidad. Para ello, la caracterización magnética se hizo utilizando un Magnetómetro. Este tipo de equipos permiten conocer la respuesta de un material a la magnetización y desmagnetización, es decir, su ciclo de histéresis; del cual se puede extraer información como el momento magnético, y partiendo de ese punto: la magnetización, susceptibilidad, permeabilidad relativa, inducción magnética remanente, intensidad magnética coercitiva, etc. De los diferentes magnetómetros, quizá la mejor opción en el mercado para la caracterización magnética a escalas nano y micro sea el Magnetómetro de Gradiente Alternado (AGFM). Este equipo permite medir parámetros relacionados a las propiedades magnéticas del material, la tabla XV recoge los parámetros que se pueden medir en el AGFM. Además, por sus características intrínsecas de operación es ideal para trabajar a las escalas mencionadas, gracias a su alta sensibilidad y resolución tanto en la medida del

momento magnético como en la generación del campo magnético alterno [García et al., 2010b].

Tabla XV. Parámetros que pueden ser medidos utilizando el AGFM [García et al., 2010b].

Curvas de Magnetización	Curvas de reversa de primer orden
Magnetización Remanente	Coercitividad
Ciclos Menores	Permeabilidad inicial
Magnetización de Saturación	Susceptibilidad Dia/Paramagnética
Magnetización Remanente Isotérmica	Coercitividad de Remanencia
Remanencia de Magnetización DC	Momento vs Tiempo
Distribución de campos intercalados	Relación de perpendicularidad

La interface del AGFM entrega al usuario una amplia gama de resultados que pueden ser utilizados y analizados para caracterizar las condiciones magnéticas de las PMs, dependiendo del material de fabricación; y en función a esto será la respuesta de las mismas a la aplicación de campos magnéticos externos [García et al., 2010b].

Para los copos, la caracterización magnética iba dirigida a ver la capacidad de éstos para ser atraídos por los explantes fabricados. Una vez seguido el proceso de fabricación de acuerdo con [Álvaro Muñoz Noval, 2011], se llevaba la muestra al LBN para, en primera instancia sacar su respuesta magnética usando el AGFM, y posteriormente realizar la experimentación in vitro de la interacción magnética del sistema.

En la figura 68 se muestra la caracterización magnética para la primera tanda de copos fabricada, data de Mayo de 2010. Tenía una concentración de 25 mg/ml y principalmente se observó, en su ciclo de histéresis, una gran inestabilidad de la respuesta y valores máximos de magnetización del orden de $9,83542\text{E-}7$ ($\text{A}\cdot\text{m}^2/\text{g}$). En el inciso a) se presenta la respuesta sin procesamiento

posterior, es decir, tal y como fue entregada por el AGFM, y en b) la respuesta magnética con un suavizado AAV (Adjacent-Averaging Value). Al hacer el suavizado se pueden observar dos cruces de la respuesta magnética de los copos, esto se puede atribuir a la poca cantidad de material ferroso existente en ellos o incluso a que algunos copos no contienen nada.

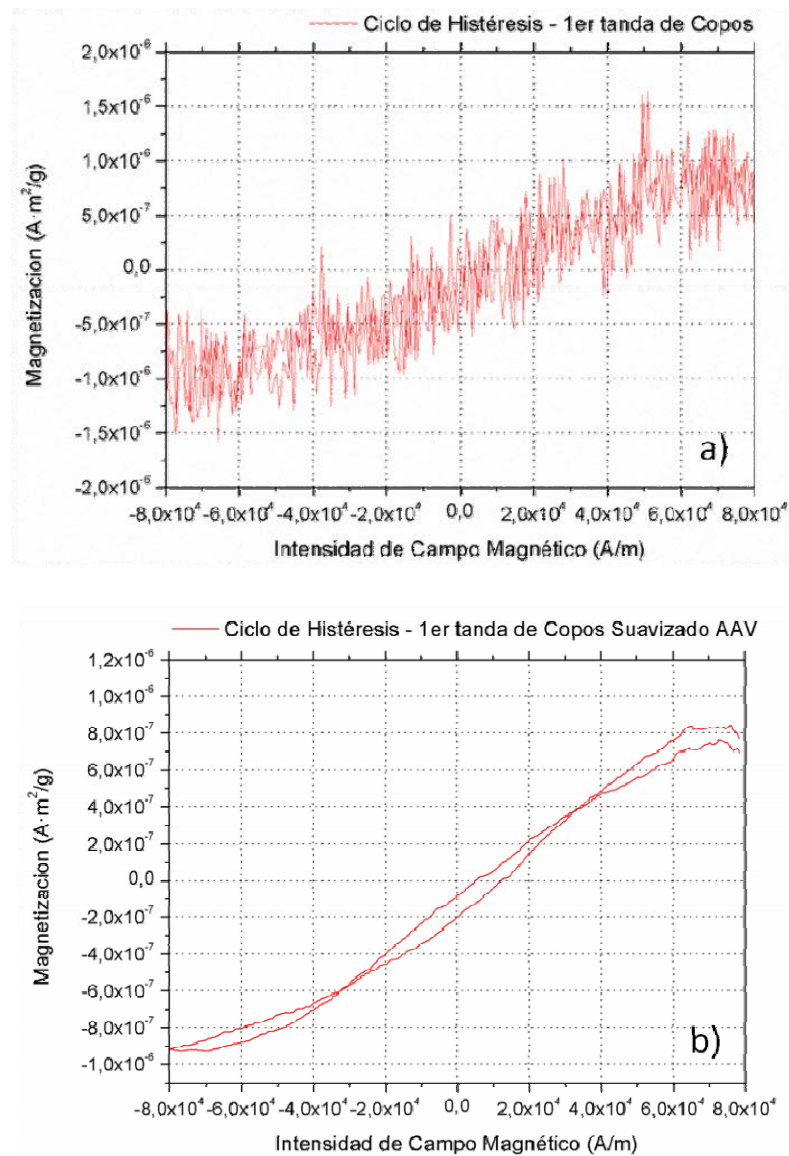
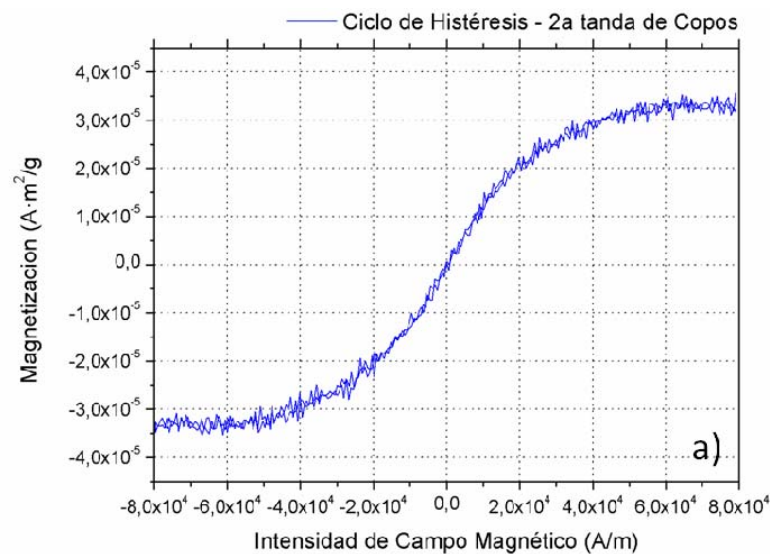


Figura 68. Ciclo de histéresis de la primera tanda de copos caracterizada con el AGFM. En a) la respuesta magnética sin suavizado, y en b) la respuesta magnética con suavizado AAV.

Para la segunda tanda, caracterizada en Julio de 2010, se siguió el mismo procedimiento y se obtuvo lo que se muestra en la figura 69, que es la respuesta magnética de los copos en una concentración de 25 mg/ml, en a) la respuesta magnética sin suavizado, y en b) la respuesta magnética después de aplicar el suavizado AAV. La respuesta que muestra esta tanda sin aplicar suavizado contiene menos ruido e inestabilidad que la observada en la tanda anterior. Además, ha aumentado el valor de la magnetización a $3,31724\text{E-}5$ ($\text{A}\cdot\text{m}^2/\text{g}$) y al aplicar el suavizado AAV no se observan cruces entre la ida y la vuelta del ciclo de histéresis, inclusive se pudiera intuir que los copos tenderán a un comportamiento superparamagnético.



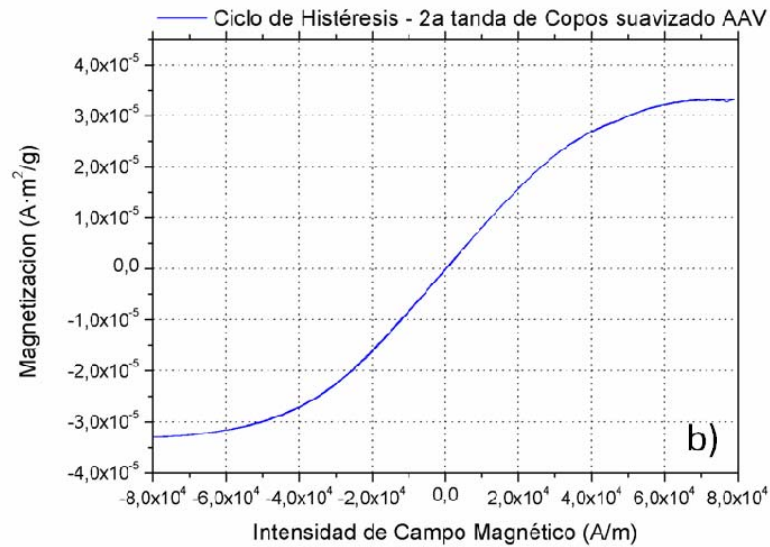


Figura 69. Ciclo de Histéresis de la segunda tanda de copos. En a) la respuesta magnética sin suavizado, y en b) la respuesta magnética después de aplicar suavizado AAV.

En el caso de la tercera tanda, caracterizada en Agosto de 2010, era de esperarse una mejora importante en el comportamiento de los copos tras la aplicación de un campo magnético alternante. La figura 50 muestra el ciclo de histéresis de los copos pertenecientes a la tanda tres, con una concentración de 75 mg/ml. Se puede observar que el ciclo de histéresis corresponde perfectamente a un comportamiento superparamagnético, pero lo más importante fue que la magnetización alcanzó valores de $6,66712E-5$ ($A \cdot m^2/g$), suficiente para interactuar con los campos magnéticos propuestos como se verá más adelante. Así mismo, se observa un ciclo bien definido y sin perturbaciones, lo cual es indicativo de que los copos están más homogéneamente cargados con material ferroso.

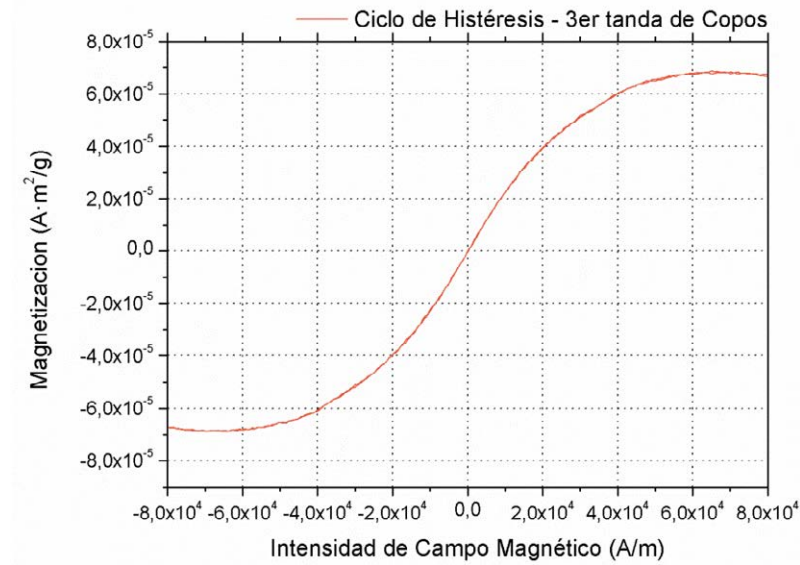


Figura 70. Ciclo de histéresis de los copos pertenecientes a la tanda tres.

La cuarta tanda fue procesada en el AGFM en Febrero de 2011, y su respuesta magnética se presenta en la figura 71. Siguiendo con la mejora continua, esta muestra dio una respuesta superparamagnética estable, con valores máximos de magnetización de $9,06342 \times 10^{-4}$ ($\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{g}$). Por tanto, su comportamiento ante la presencia de un CME externo se podría esperar más eficiente inclusive que la tercera tanda.

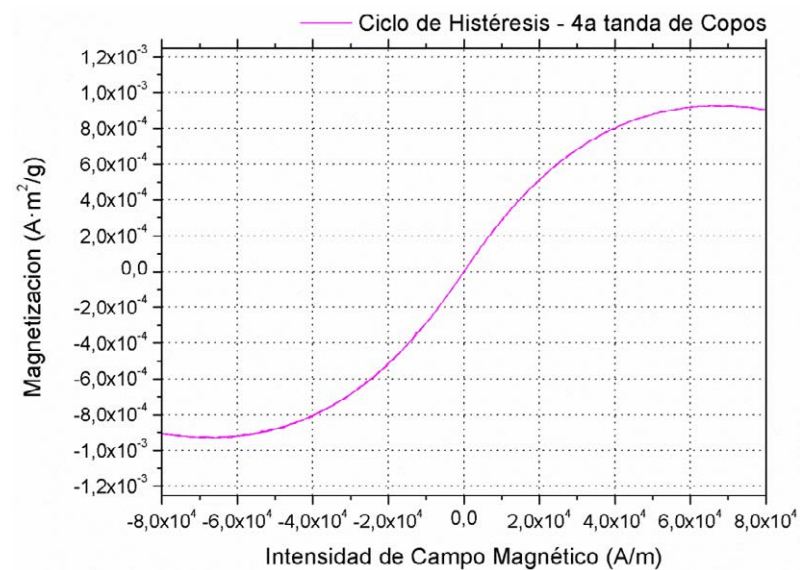


Figura 71. Ciclo de histéresis de la cuarta tanda de copos.

Para sustentar algunas de las aseveraciones hechas, también se presentan las figuras 72 y 73. La primera es una comparativa de las cuatro tandas caracterizadas en el AGFM en un año, y la segunda es la evolución de los valores de magnetización en el mismo periodo de tiempo y su ajuste de comportamiento (función exponencial creciente). En ambas se puede evidenciar la mejora continua entre los copos fabricados, dando además indicios de la importancia que tiene el ciclo de carga de material ferroso en el proceso de fabricación, ya que éstos fueron variando de 1-3 desde la tanda 1 hasta la 4.

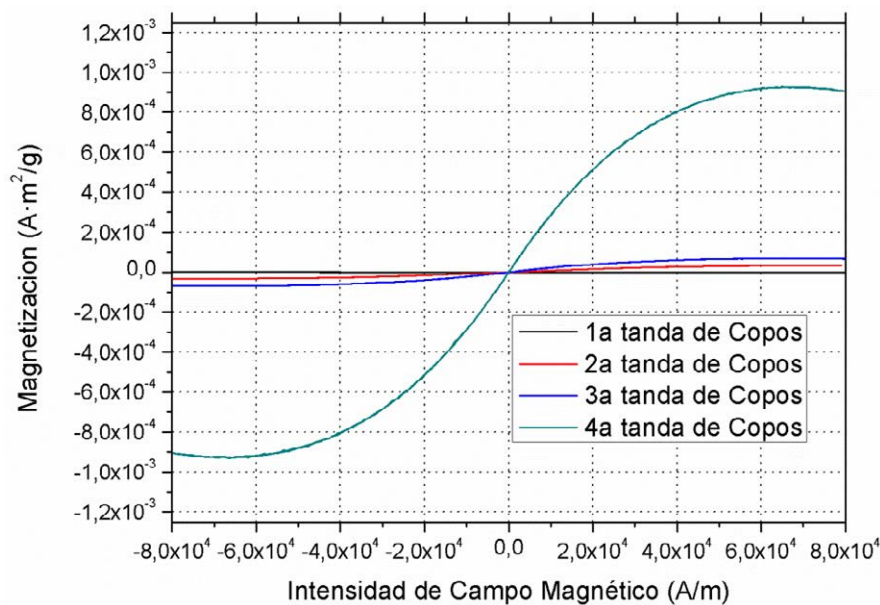


Figura 72. Comparativa de los ciclos de histéresis de las cuatro tandas de copos fabricadas.

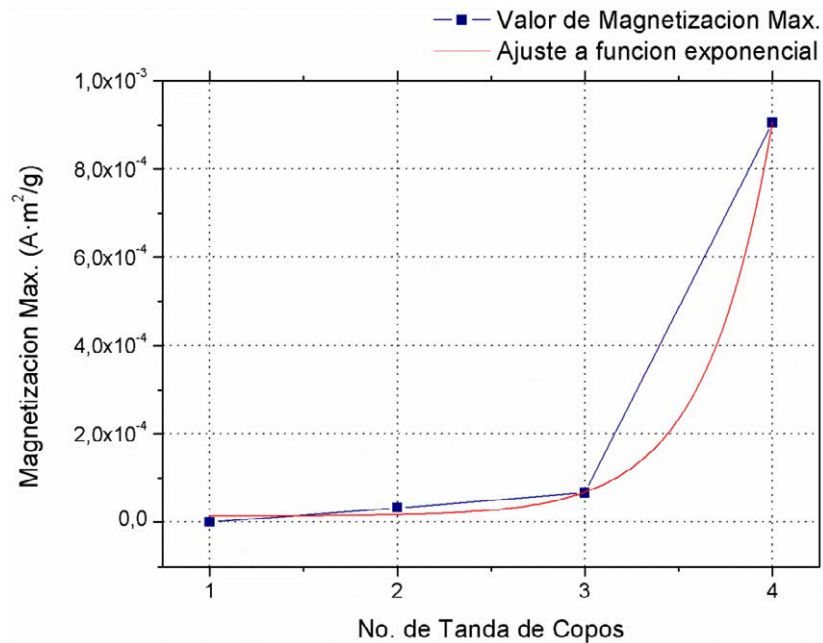


Figura 73. Evolución de los valores máximos de magnetización alcanzados por cada una de las cuatro tandas de copos fabricadas y su ajuste de comportamiento funcional.

Finalmente, se muestra la figura 74, que es una comparativa de los ciclos de histéresis de las cuatro tandas de copos fabricadas y las partículas comerciales de Chemicell escogidas para la prueba de toxicidad y validación de la aplicación propuesta. En ella se observa que la magnetización máxima de las partículas comerciales está dos órdenes de magnitud por encima de la mejor versión de copos que se obtuvo, $1,01522\text{E}-2$ ($\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{g}$) y $9,06342\text{E}-4$ ($\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{g}$). Sin embargo, el hecho de no alcanzar valores de magnetización del orden de las partículas comerciales es benéfico para la aplicación, ya que este parámetro está directamente relacionado con la cantidad de material magnético que hay en la partícula, y si las partículas comerciales resultaron de toxicidad leve-moderada, los copos tendrán una mejor evaluación.

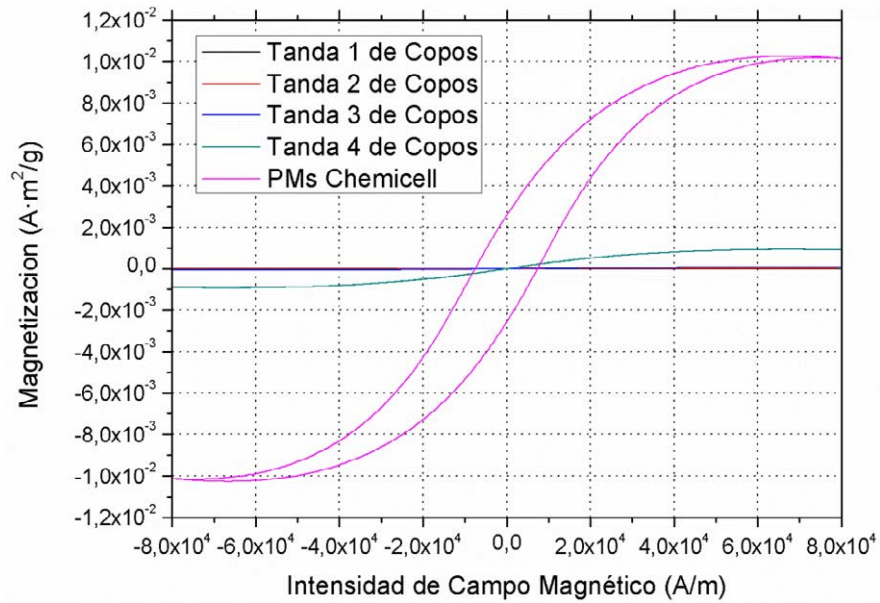


Figura 74. Gráfica comparativa de las cuatro tandas de copos fabricadas con las partículas magnéticas comerciales de Chemicell.

6.7.5.2 Explante Magnético

El prototipo de explante magnético fue diseñado y concebido en el LBN del CTB. Tras la experiencia trabajando con imanes permanentes para el guiado y focalización de partículas magnéticas, así como la colaboración cercana de los médicos oftalmólogos, se propusieron los siguientes criterios de diseño:

- 1) Altura y diámetro máximos de 2 mm y 8 mm, respectivamente.
- 2) Fuerza magnética.
- 3) Recubrimiento biocompatible con tejido vivo.
- 4) Distribución de las líneas de campo magnético.
- 5) Suturable a la esclerótica.

La altura del explante se fijó en 2 mm, medida que sugirieron los médicos oftalmólogos basados en su experiencia quirúrgica. Dicha altura limitó las posibilidades de diseño al momento de considerar el tamaño del imán y el recubrimiento, ya que entre los dos deben alcanzar dicha altura. La evaluación

del diámetro idóneo para el explante se hizo teniendo presente las sugerencias de los médicos, en primera instancia, y la inducción magnética inicial y a 10 mm de distancia aportada por cada imán. Para tal fin, se utilizaron las mismas dos herramientas de simulación empleadas para la caracterización dinámica de micro y nanopartículas magnéticas presentada en el capítulo anterior: Matlab y Maxwell 3D.

Con Matlab el estudio estuvo orientado a observar el comportamiento magnético en función del diámetro del imán considerado. La figura 75 muestra los resultados obtenidos para la variación de la inducción magnética simulada con respecto a un punto en el espacio alejándose de la cara superior del explante. Se consideraron 4, 5, 6, 7 y 8 mm de diámetro, valores dentro del rango de posibilidades; y los imanes tienen una energía de magnetización de 42 MGOe. Se observa que conforme el diámetro aumenta la inducción magnética lo hace proporcionalmente y está directamente relacionado con la forma, tamaño y volumen del imán. Además, para todos los casos considerados, es visible un comportamiento exponencial decreciente conforme la distancia aumenta.

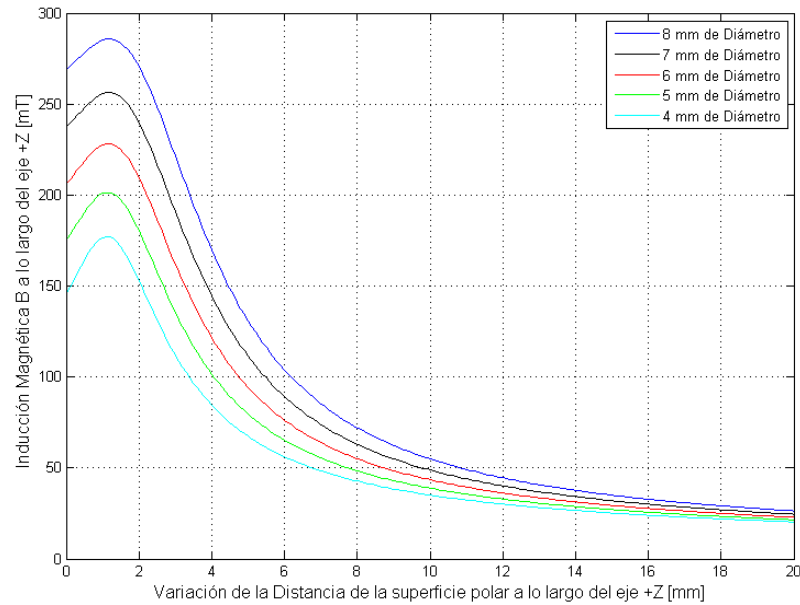


Figura 75. Variación de la inducción magnética simulada con respecto a un punto en el espacio alejándose de la cara superior del explante.

Observando que existe convergencia de todos los diámetros propuestos conforme la distancia de separación entre el punto considerado y la cara polar del imán, y teniendo presente que el punto de inflexión que marcará la diferencia en la valoración es la inducción magnética a 10 mm de distancia; se hace un acercamiento a la gráfica de la figura 75 que muestre la evolución de la inducción magnética entre 9,5 y 10,5 mm y se presenta en la figura 76.

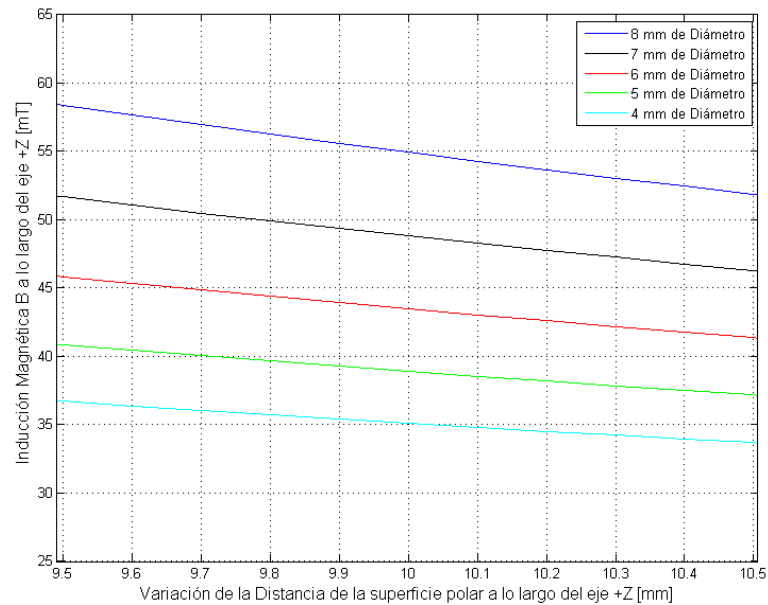


Figura 76. Acercamiento hecho a la gráfica de la figura 75 para mostrar la evolución de la inducción magnética entre 9,5 y 10,5 mm.

De ella se puede extraer el valor de la inducción magnética justo a 10 mm de la cara polar del imán para cada uno de los diámetros considerados, éstos se presentan en la tabla XVI. Se observa que la diferencia entre los valores de inducción magnética va decreciendo en función del milímetro que diferencia los imanes considerados para el estudio de acuerdo con la tabla XVII, y que en media dicha diferencia es de 4.95 mT.

Tabla XVI. Relación entre el diámetro del imán y la inducción magnética experimentada a 10 mm de la cara superior del imán.

Diámetro del explante [mm]	Inducción Magnética [mT]
4	35.09
5	38.88
6	43.45
7	48.79
8	54.90

Tabla XVII. Diferencia entre los valores de inducción magnética de manera decreciente entre los diferentes diámetros considerados para el estudio y el valor medio de dicha diferencia en inducción magnética.

Diámetros considerados [mm]	Diferencia de Inducción Magnética [mT]
8-7	6.11
7-6	5.34
6-5	4.57
5-4	3.79
Media	4.95

Puesto que el comportamiento decreciente exponencial de la inducción magnética conforme se separa de la cara polar se observa que tiende a estabilizarse, y que la diferencia entre cada uno de los diámetros considerados con respecto a la inducción magnética no representa, hasta este momento, una complicación para el logro de la interacción magnética entre explante y ferrofluido, así como de la presión aplicada sobre la retina; la evaluación final para la elección del imán adecuado estuvo relacionada con la anatomía del ojo y las posibles complicaciones que tuviera el explante en suturarse, así como la existencia de los imanes industrialmente ya que solicitarlos a medida aumenta el coste 10 veces por unidad. Entonces, se optó por un imán de NdFeB con 1 mm de altura y 6 mm de diámetro, con magnetización sobre el eje rotacional.

Con el fin de aportar una visión más real de la distribución de la inducción magnética en el espacio proveniente del explante, se hizo la simulación en 3D del imán seleccionado. Primeramente se construyó el imán con la forma, medidas y material de fabricación, tal y como se ve en la figura 77. En ella se presentan, en a) el imán contenido en una región de aire equivalente a 10 veces la altura del imán sobre el eje Z, y 1 vez el diámetro del mismo sobre los

ejes X e Y; en b) se muestran las propiedades del imán; y en c) las propiedades de la región.

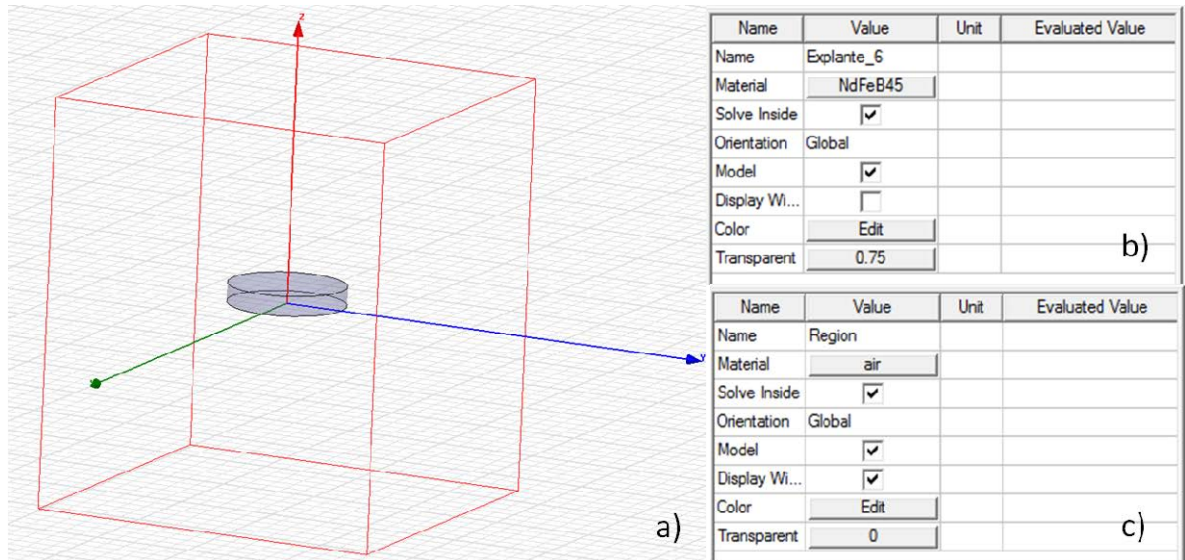


Figura 77. Simulación 3D del imán seleccionado para el prototipo del explante. En a) el imán contenido en una región de aire, en b) se muestran las propiedades del imán; y en c) las propiedades de la región.

Una vez hecho lo anterior, se procedió al análisis de la inducción magnética. La figura 78 representa la magnitud de la inducción magnética en el imán, el mapa de colores tiene su equivalencia a los valores que el propio simulador entrega al hacer el análisis. En dicho mapa se puede identificar que el valor correspondiente a la parte central de la cara superior del imán está entre los valores de 179,27 mT y 246,97 mT. El valor medio de dicho rango corresponde a 213,12 mT, que comparativamente con el valor obtenido para el imán con las mismas características en la simulación de Matlab, 206.3 mT y mostrado en la figura 79, existe únicamente una diferencia entre ambas de 6.82 mT.

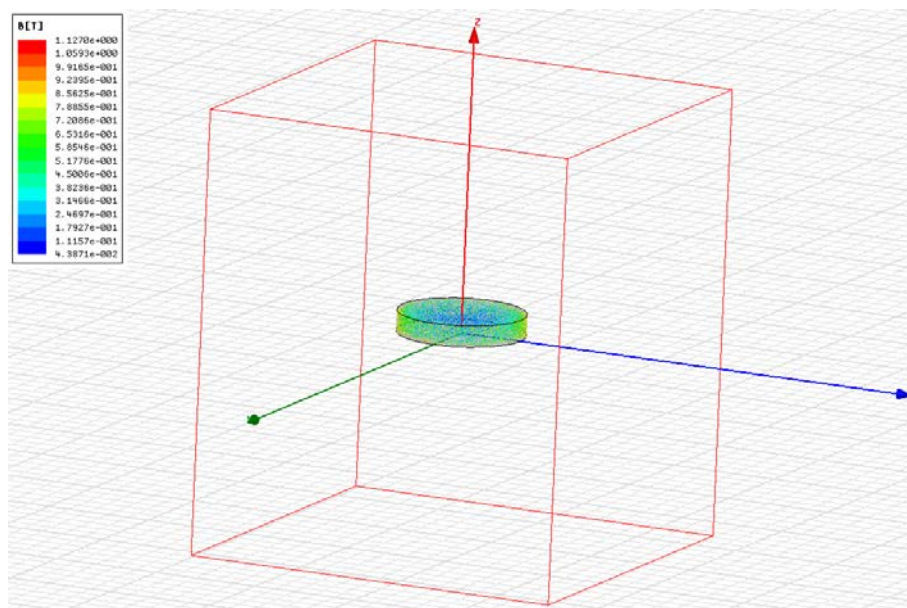


Figura 78. Simulación 3D de la magnitud de la inducción magnética en el imán

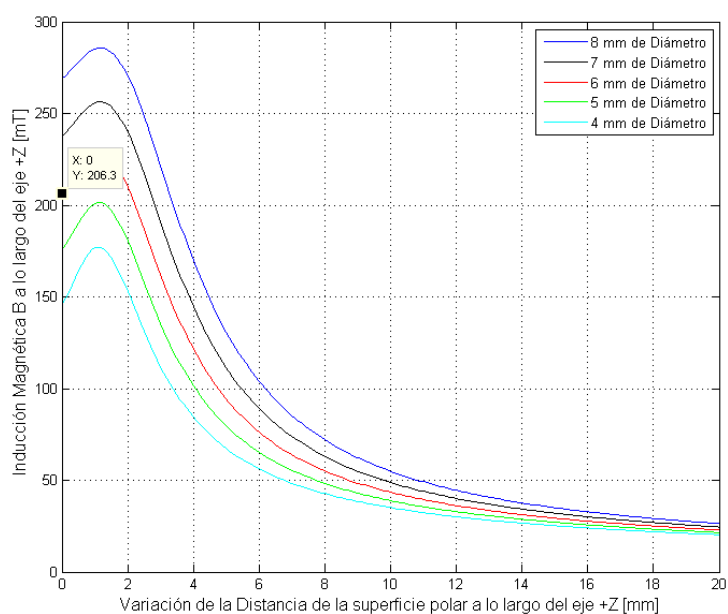


Figura 79. Valor de la magnitud de la inducción magnética para el imán de 6 mm de diámetro con Matlab.

Sin embargo, cuando se midió la inducción magnética en el laboratorio usando el Gausímetro, se obtuvo que fue de 191,93 mT, teniéndose una diferencia con respecto a Maxwell 3D y Matlab de 21,19 mT y 14.37 mT, respectivamente.

De la figura 78, también se puede extraer información acerca de cómo se distribuye la inducción magnética en todo el volumen del imán. Se observa que conforme se aleja del centro de la superficie, la inducción magnética aumenta progresivamente hasta valores de 700 mT, aproximadamente, en los puntos más externos. Esto se debe a que en la parte de la circunferencia las líneas de campo cierran su ciclo, polo norte - polo sur de inmediato, concentrándose la energía magnética, pero su alcance con respecto a la distancia es de unas cuantas centenas de micrómetros.

Para completar el análisis del comportamiento magnético simulado del imán seleccionado, se presentan las figuras 80 y 81. En la primera se observan las líneas de campo en la región completa de simulación, y en la segunda un acercamiento a la parte superior del imán. En ambas figuras se ve que las líneas de campo magnético provenientes del imán disminuyen su valor de inducción magnética conforme se alejan de la cara superior e inferior. Esto va en concordancia con las simulaciones hechas en Matlab y lo observado en el laboratorio al utilizar el Gausímetro.

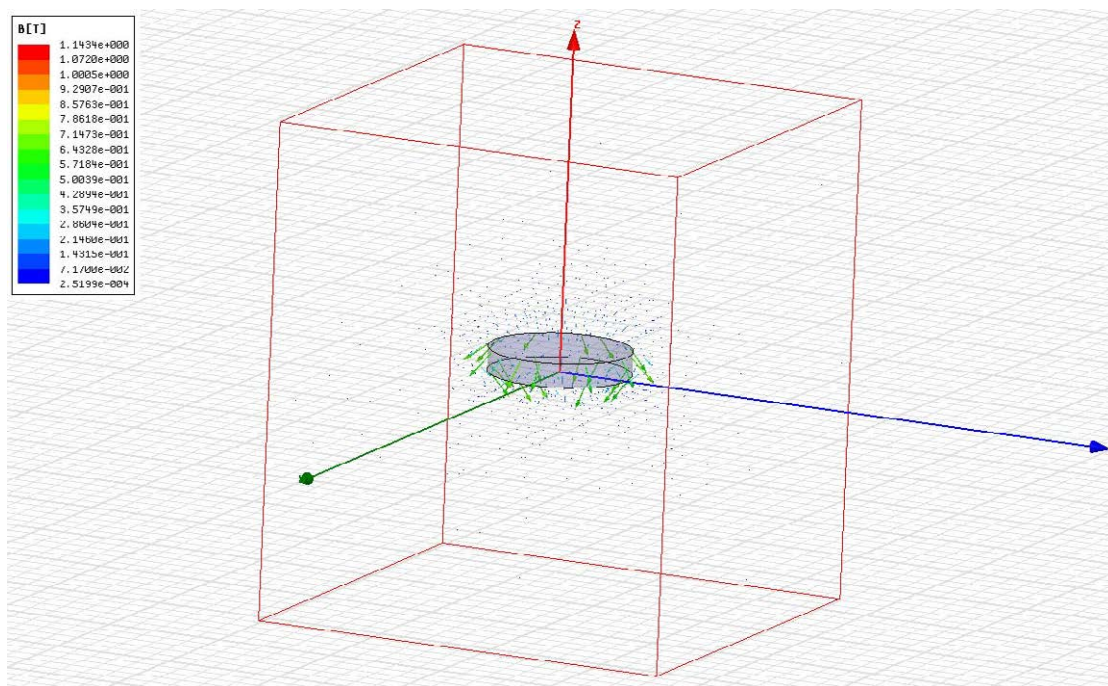


Figura 80. Líneas de campo magnético en la región de simulación completa para un imán de NdFeB con un diámetro de 6 mm y una altura de 1 mm.

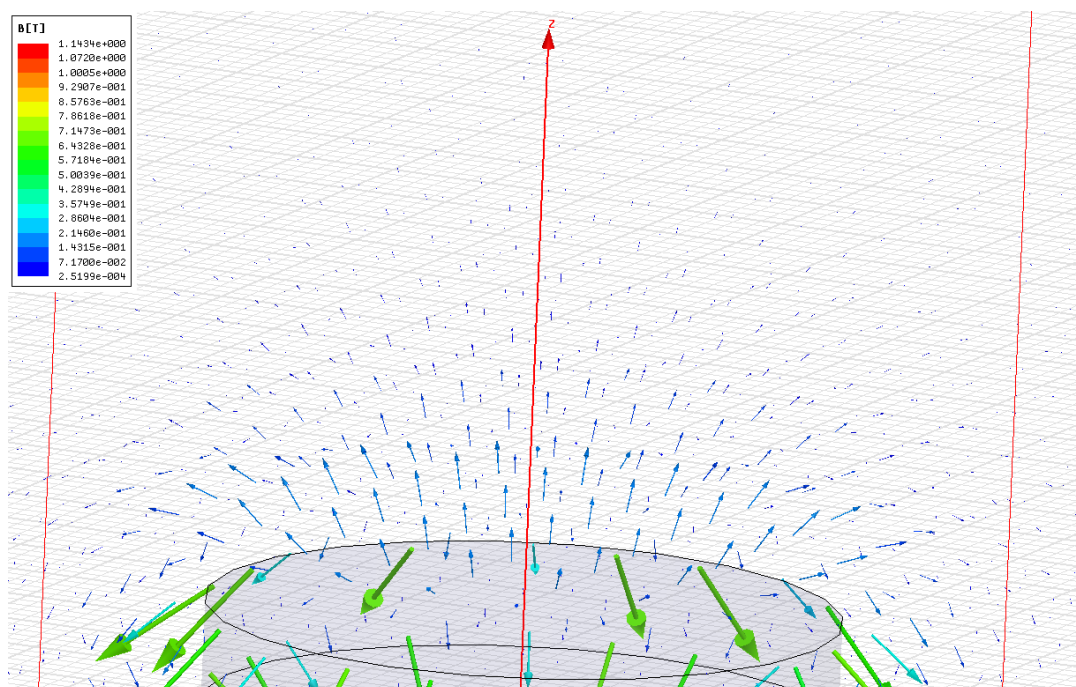


Figura 81. Acercamiento a la cara superior del imán simulado en Maxwell 3D con un diámetro de 6 mm y una altura de 1 mm, para la observación de la distribución de las líneas de campo.

Fundamentado en todo lo anterior, la mejor elección entonces fue un imán de NdFeB con un diámetro de 6 mm y una altura de 1 mm. Esta elección

permite tener una superficie suficiente para taponar un agujero retiniano, y un CME con una inducción magnética de 200 mT en la cara del imán, suficiente para atraer las partículas magnéticas desde la distancia aproximada donde los médicos tienen acceso al ojo para la liberación de éstas, 10 mm.

La figura 82 es una fotografía del imán seleccionado para el prototipo del explante magnético, comprado en la empresa británica first4magnets.



Figura 82. Imán de NdFeB elegido para el prototipo del explante magnético, con diámetro de 6 mm y altura de 1 mm.

Ya definido el tamaño ideal para la parte activa del explante, se continuó con la biofuncionalización, quedando 500 μm en cada cara para la colocación del recubrimiento. Los materiales propuestos fueron el epoxi y un elastómero de silicona. El primero consta de dos elementos activos: EPOFER EX 401 y líquido de curado EPOFER E 432; ambos de la casa comercial FEROCAST y mostrados en la figura 83.



Figura 83. Conjunto de elementos necesarios para obtener el epoxi y utilizarlo como recubrimiento.

El segundo también se compone de dos elementos similares a los del epoxi pero su manipulación es mejor para recubrir. Sin embargo, debido a la dificultad para obtenerlo, se decidió emplear para una primera aproximación el epoxi.

El epoxi no es un material utilizado con estos fines, por lo que se debería cuidar la toxicidad que pudiera ocasionar al tejido vivo una vez suturado a la esclerótica. Para mitigarla, y conociendo las particularidades del silicio, se sugirió recubrir con una película delgada.

Continuando, una condición importante establecida por los médicos oftalmólogos fue que los explantes se pudieran suturar a la esclerótica. Para ello se aprovecharon las propiedades de maleabilidad de los materiales usados para recubrir los explantes, dejando dos puntos de sutura opuestos entre sí sobre la circunferencia de éstos.

Para finalizar, puesto que se trata de dos desarrollos tecnológicos para uso médico, ambos deben cumplir con procesos de esterilización. Ésta se llevó a cabo utilizando una cabina de seguridad biológica Clase II con longitud de onda en el rango del Ultravioleta de 300 nm. De esta forma se pueden alcanzar esterilizaciones de un 98%. Es un tipo de esterilización empleado ampliamente por la industria alimentaria, hospitalaria, mueblería, colchonera, tecnológica, entre otras.

Tanto los procedimientos seguidos para el recubrimiento de los imanes como los de esterilización y diseño de los puntos de sutura han quedado bajo patente [García et al., 2012], por lo que se omitirán para protección.

6.7.6 Evaluación funcional del Sistema Ocular

De acuerdo con las necesidades a lo largo del proyecto, se tuvieron que hacer evaluaciones de la funcionalidad de los ferrofluidos utilizados, así como de las opciones de diseño para los explantes. A continuación se presentan los experimentos y resultados realizados in vitro e in vivo, teniendo como objetivo todos ellos la demostración de la funcionalidad del sistema ocular.

6.7.6.1 Evaluación In Vitro

Esta parte del trabajo fue realizada en las instalaciones del Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina del Centro de Tecnología Biomédica. Se realizó teniendo las siguientes consideraciones:

1. Utilización de un elemento que emula en forma y tamaño al ojo humano. Para ello se usó la parte más externa de una bombilla, la cual tiene un diámetro aproximado de 25 mm. Si bien el material no es similar en ningún sentido al del ojo humano, las intenciones de este fantoma se limitaban a la observación de la interacción magnética entre partículas e imán.
2. Uso de suero fisiológico para rellenar el espacio interior del fantoma, ya que en la cirugía llevada a cabo se sustituye el vítreo por suero fisiológico y posteriormente se inserta el ferrofluido.
3. El tiempo de duración del experimento fue de 30 días, esto basado en que es el mayor periodo que suele estar un taponador en el interior del ojo.

Por otro lado, el protocolo seguido fue el siguiente:

- 1) Colocación del fantoma de ojo en una superficie plana y que permita mantenerlo firme.
- 2) Llenado del fantoma de ojo con suero fisiológico a 4/5 de la capacidad total.
- 3) Extracción de 10 μ l de partículas magnéticas de su contenedor con una pipeta manual de precisión de 1-10 μ l.
- 4) Colocación de un arreglo de cinco imanes en la superficie externa del fantoma para interactuar con las partículas magnéticas insertadas en el interior del mismo.
- 5) Inserción de los 10 μ l de ferrofluido a una distancia aproximada de 10 mm, distancia a la cual es colocado el ferrofluido en la cirugía de corrección del desprendimiento de retina.
- 6) Retirada del ferrofluido después de 28 días de estar en el fantoma.

Todo lo anterior fue seguido tanto en experimentos con partículas esféricas como con copos.

El primer experimento planteado tuvo la finalidad de comprobar que la magnetización sobre el eje Z sería mejor opción que la magnetización diametrical, esto independientemente de que ya se había justificado que la primera magnetización era la ideal. Para este experimento se utilizaron 10 μ l de partículas magnéticas esféricas comerciales, en una concentración de 200 mg/ml y un arreglo de imanes sobre la superficie del fantoma de ojo como el mostrado en la figura 84. Esta configuración fue válida para cualquiera de los siguientes supuestos experimentales: imanes con magnetización sobre el eje Z,

con magnetización diametrical, partículas magnéticas esféricas y copos magnéticos. Se pensó hacer de esta manera ya que, dentro de las soluciones propuestas para el desprendimiento de retina, existe la posibilidad de usar tantas configuraciones como pueda necesitar el médico; entonces ver la interacción entre partículas e imanes resulta en información valiosa para la estimación de comportamiento variando las configuraciones.



Figura 84. Arreglo de imanes empleado en la experimentación in vitro en cualquiera de los supuestos.

Una vez colocados los imanes se procedió a la inserción del ferrofluido emulando las condiciones de liberación a las realizadas por los médicos oftalmólogos durante la cirugía, que sería liberar el ferrofluido a una distancia aproximada de 10 mm a lo largo del arreglo de imanes, tal y como se muestra en la figura 85.



Figura 85. Inserción del ferrofluido en el interior del fantoma de ojo para la observación de la interacción magnética, respetando la distancia aproximada a la que los médicos lo hacen en la cirugía, 10 mm.

Respetando las condiciones descritas con anterioridad, el experimento consistió en la inserción de las partículas magnéticas empleando imanes con magnetización sobre el eje Z y magnetización diametrical, dejándose interaccionando durante 30 días para después retirarlos. La figura 86 es una secuencia de imágenes de la inserción del ferrofluido de imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) la colocación de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, en b) la deposición en el primer imán de ferrofluido, en c) la atracción del ferrofluido hacia el segundo imán, y en d) ferrofluido en cuatro de los imanes. La primera observación es que la liberación del ferrofluido no se puede mantener siempre a los 10 mm de distancia que se había propuesto, sin embargo esta situación es similar en la cirugía. En consecuencia, la deposición de las partículas será dependiente de la estabilidad de la mano del que las inserta. Por otro lado, se visualiza que la atracción del ferrofluido hacia los imanes es inmediata, por tanto la viscosidad del medio no tiene efecto alguno

en la interacción magnética y la fuerza magnética es suficiente para mantener las partículas magnéticas adheridas al vidrio que se encuentra entre ambos elementos de interacción.

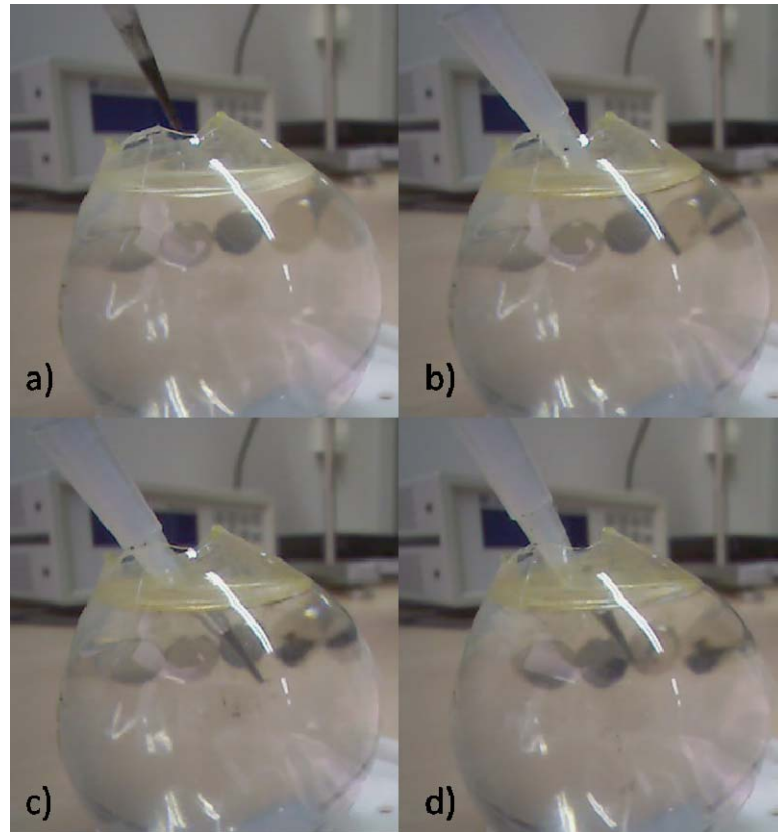


Figura 86. Secuencia de imágenes de la inserción del ferrofluido de imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) la colocación de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, en b) la deposición en el primer imán de ferrofluido, en c) la atracción del ferrofluido hacia el segundo imán, y en d) ferrofluido en cuatro de los imanes.

Finalmente, en el inciso c) de la figura 86 se identifican hacia el centro del fantoma de ojo unos puntos negros, éstos son aglomeraciones de partículas magnéticas que han escapado de la punta de la pipeta debido a la manipulación de ésta en el interior del fantoma, lo que ocasiona que haya fuerzas de rozamiento entre el medio y la parte más externa de la punta de la pipeta, liberando ferrofluido de forma aleatoria que terminó por depositarse en el fondo del fantoma de ojo como se ve en la figura 87, identificado con un círculo color

rojo oscuro. Este acontecimiento permitió visualizar la problemática que tendría hacer la inserción del ferrofluido en el ojo de conejos y sus posibles consecuencias, como ya se presentó en el apartado de toxicidad y que se verá en el apartado de la evaluación de la funcionalidad in vivo.



Figura 87. Vista de la deposición del ferrofluido en el fondo del fantoma de ojo.

El experimento descrito arriba se repitió para imanes con magnetización diametrical, presentándose en la figura 88 como una secuencia de imágenes, en a) la introducción de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, b), c) y d) son tres imágenes consecutivas de cómo es atraído el ferrofluido a la superficie del imán, y e) y f) muestran la distribución tomada en los cinco imanes del ferrofluido. Se observó, sólo insertar la punta de la pipeta en el suero fisiológico, la liberación de ferrofluido al contactar con éste, depositándose en el fondo del fantoma de ojo. En lo que a la interacción concierne, se vio que la atracción de las partículas magnéticas cumplió con las expectativas, pero también dependerá de la forma como se insertan las partículas.

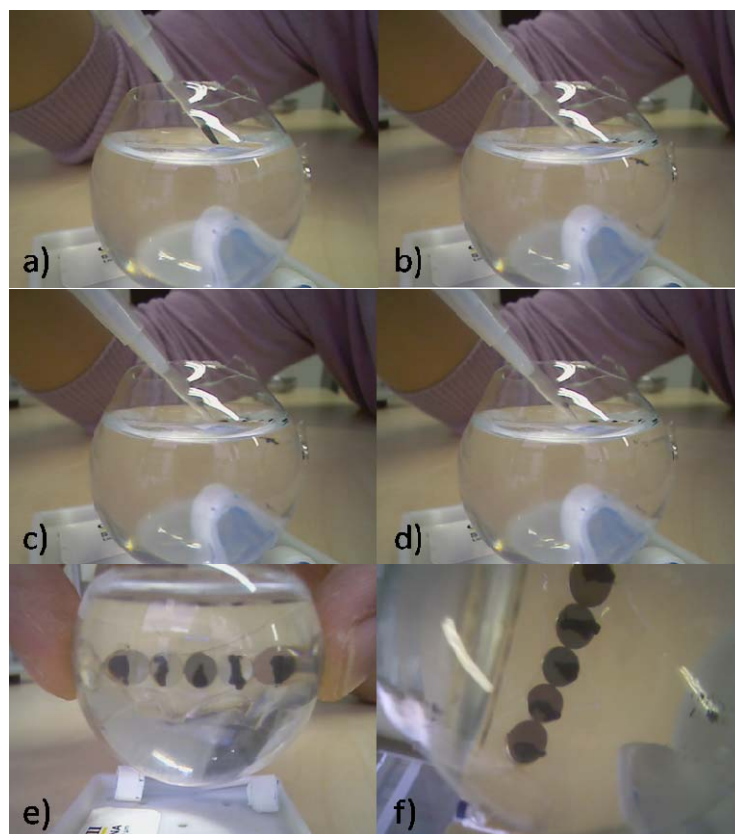


Figura 88. Secuencia de imágenes de la inserción del ferrofluido con imanes magnetizados sobre su diámetro. En a) la introducción de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, b), c) y d) son tres imágenes consecutivas de cómo es atraído el ferrofluido a la superficie del imán, y e) y f) muestran la distribución tomada en los cinco imanes del ferrofluido.

Continuando y apoyándose en la figura 89, la cual muestra el resultado de las interacciones entre el ferrofluido e imanes con ambos tipos de magnetización, en a) sobre el eje Z y en b) sobre el diámetro; se puede hacer un análisis comparativo. En ambos casos la interacción magnética entre las partículas e imanes resultó buena, es decir, fueron atraídas hacia los imanes con la fuerza necesaria para quedarse adheridas al vidrio sin depositarse en su totalidad al fondo del fantoma de ojo. Aunque no se observe que los imanes están completamente cubiertos esto se puede despreciar para fines de análisis in vitro, ya que sólo se han utilizado 10 μ l distribuidos a lo largo de los imanes,

siendo que en los ensayos con animales se ha propuesto la colocación de 50 μl en cada imán; con esta cantidad será suficiente para cubrir toda la superficie del imán. Además, se observa que la distribución en el caso de los imanes con magnetización sobre el eje Z es más homogénea si se considera que todas las partículas se han depositado sobre la mitad inferior de los imanes, formando una línea a lo largo de éstos. En los imanes con magnetización diametrical la deposición del ferrofluido es aleatoria, siendo que en este experimento se consiguió mejor control de la inserción del mismo. Por tanto, se identifican como condiciones críticas que afectan la deposición de las partículas magnéticas sobre la superficie de los imanes al proceso de inserción de las mismas, y a la magnetización de los imanes.

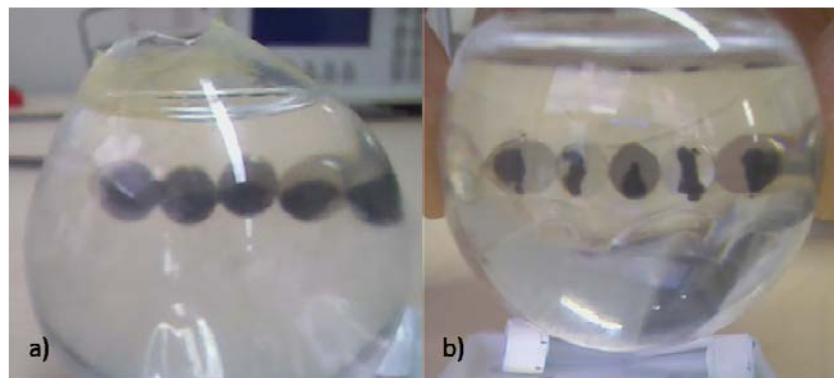


Figura 89. Comparación de la interacción magnética de ferrofluido con partículas esféricas, en a) imanes con magnetización sobre el eje Z, y en b) imanes con magnetización diametrical.

Hecho lo anterior, se dejaron ambos casos durante 28 días como marcaba el protocolo a seguir, haciendo revisiones intermedias: a los 3 y 18 días, en el caso de los imanes con magnetización sobre el eje Z; y de 3, 7, 10 y 25 días para los imanes con magnetización diametrical. Las revisiones fueron más exhaustivas en el último experimento mencionado debido a que se tenía menos información del comportamiento magnético de este tipo de imanes. La figura 90

muestra tres imágenes, el inciso a) corresponde al día de la inserción del ferrofluido, b) es 3 días después de poner el ferrofluido, y c) 18 días posteriores. En todas ellas se observa que el ferrofluido se ha mantenido en la misma posición que cuando fue insertado.



Figura 90. Imágenes de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo en imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) el día de la inserción del ferrofluido, en b) 3 días después, y en c) 18 días posteriores.

Sin embargo, haciendo un acercamiento a cada una de las imágenes mostradas en la figura 90: a) el día de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, y c) 18 días posteriores; se visualiza que ha existido una migración del ferrofluido a lo largo del tiempo mayoritariamente en las intersecciones de los imanes, esto es más evidente entre el primer imán y el segundo, de izquierda a derecha, en el inciso c) de la figura 91. En dicha intersección se ve que el ferrofluido depositado en ambos imanes ya está en contacto, esta situación no se observó en el momento de la inserción del ferrofluido y se puede constatar en el inciso a de la misma figura.

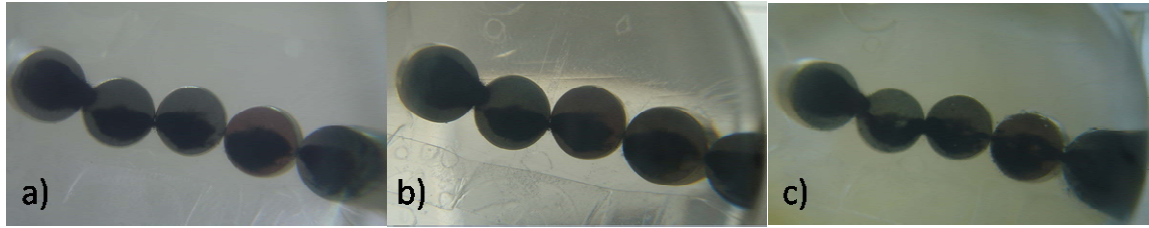


Figura 91. Acercamiento de la figura 71 de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo en imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) el día de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, y c) 18 días posteriores.

Por otro lado, también es visible, sobre todo en los imanes centrales, que el ferrofluido ha dejado huecos en la superficie que antes estaban ocupados, esto se puede ver mejor en la figura 92, la cual también ayuda a dar soporte al tema de migración del ferrofluido, ya que se observa mejor en las intersecciones de los imanes. Además, permite hacer el apunte de que hay residuos del ferrofluido flotando alrededor de los imanes, es decir, se han soltado pero se mantienen ya sea atraídos por las fuerzas magnéticas o por la viscosidad del medio que anula las fuerzas y mantiene los residuos en ese estado.



Figura 92. Acercamiento del inciso c) de la figura 66 de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo en imanes con magnetización sobre el eje Z.

Para el caso de los imanes con magnetización diametrical se presenta la figura 93, en ella se observan cinco imágenes que corresponden a: a) el momento de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, c) 7 días de

diferencia, d) 10 días, y e) 25 días posteriores; asimismo, en la figura 94 se muestra un acercamiento de la figura 93: a) el momento de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, c) 7 días de diferencia, d) 10 días, y e) 25 días posteriores. Se puede sustraer que la interacción entre los dos elementos del sistema ocular se mantiene a lo largo del tiempo y no se observa migración de las partículas hacia los imanes vecinos, comparativamente con el caso de imanes con magnetización sobre el eje Z.

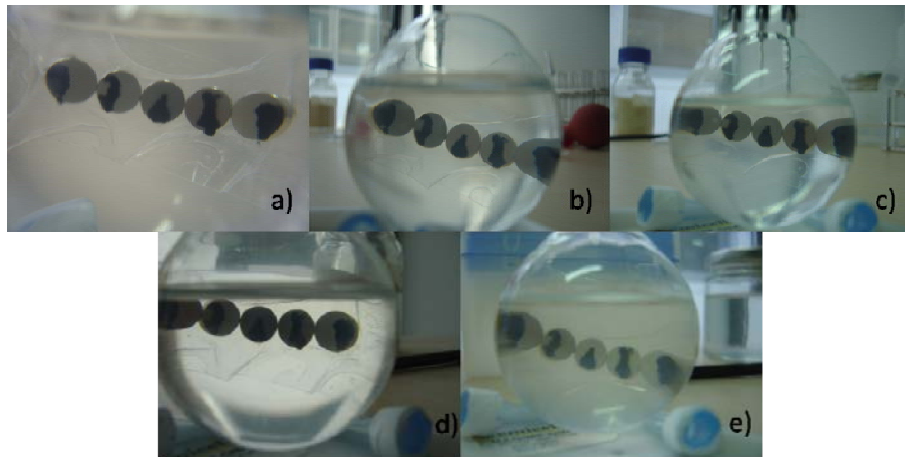


Figura 93. Imágenes de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo usando imanes con magnetización diametrical. En a) el momento de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, c) 7 días de diferencia, d) 10 días, y e) 25 días posteriores.

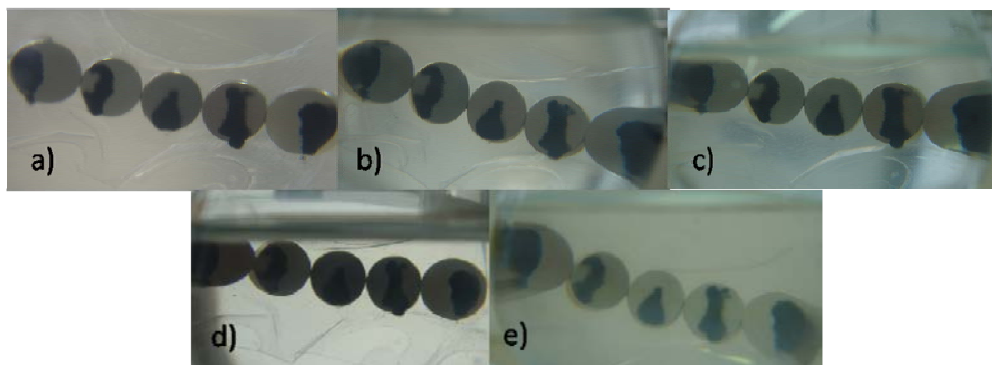


Figura 94. Acercamiento de las imágenes de la figura 68 de la evolución del ferrofluido a lo largo del tiempo usando imanes con magnetización diametrical. En a) el momento de la inserción del ferrofluido, b) 3 días después, c) 7 días de diferencia, d) 10 días, y e) 25 días posteriores.

Las diferencias al comparar ambos experimentos, en cuanto a la deposición del ferrofluido se refiere, están completamente ligadas a la interacción de las líneas de campo que salen de los imanes, tanto a nivel individual como en conjunto. En el caso de los imanes con magnetización sobre el eje Z, la energía magnética en las intersecciones es mayor al resto de la superficie de los imanes, provocando que las partículas magnéticas se muevan a través de éstas, migrando de la zona de menor energía magnética a la de mayor. Para los imanes con magnetización diametrical, puesto que su configuración parte al imán en norte y sur, con referente el diámetro, la mayor energía de magnetización se concentra en el centro de la superficie de los imanes, de ahí la forma lineal que toman las partículas magnéticas en uno de los imanes, pero como ya se ha comentado con anterioridad, la deposición depende de la forma de inserción, de aquí la aleatoriedad observada en este tipo de configuración.

La última parte de la experimentación, en ambos casos citados, consistió en retirar los imanes de la superficie externa del fantoma de ojo y observar el comportamiento del ferrofluido al no experimentar ningún CME. La figura 95 es una secuencia de imágenes de la retirada de imanes con magnetización sobre el eje Z del fantoma de ojo después de 28 días. En a) el inicio de la separación de los imanes, en b) la aglomeración de todas las partículas magnéticas sobre el último de los imanes, en c), d), e), y f) la caída del ferrofluido al fondo del fantoma de ojo una vez que ya no experimenta ningún campo magnético. El primer detalle interesante al retirar los imanes con magnetización en el eje Z

fue que al ir quitando los imanes el ferrofluido iba pasando de uno a otro conforme se iban separando de la pared del fantoma de ojo, hasta aglomerarse todas sobre la superficie del último de los imanes (ver inciso b) de figura 95). Una vez retirado el último imán se observó una precipitación por etapas del ferrofluido, esto se debe principalmente a que las partículas se magnetizan de manera diferente, y por tanto caen primero aquellas que han sufrido menor nivel de magnetización.

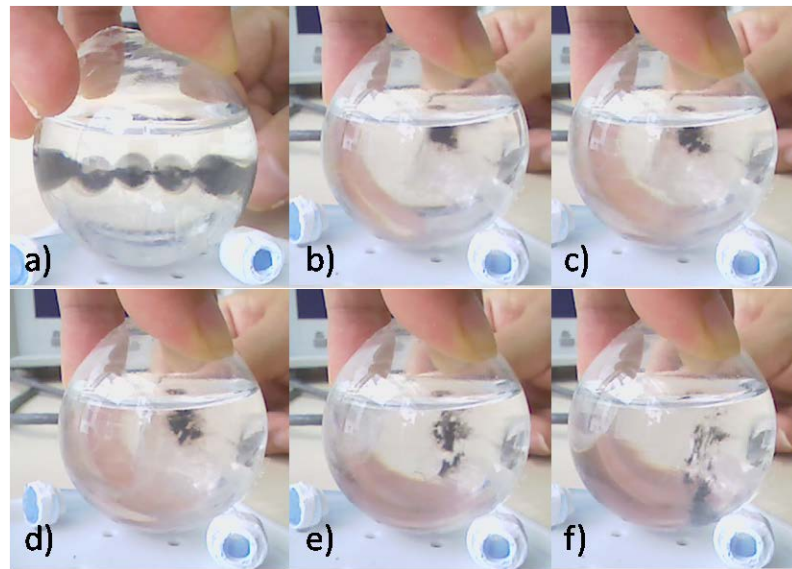


Figura 95. Secuencia de imágenes de la retirada de imanes con magnetización sobre el eje Z del fantoma de ojo después de 28 días. En a) el inicio de la separación de los imanes, en b) la aglomeración de todas las partículas magnéticas sobre el último de los imanes, en c), d), e), y f) la caída del ferrofluido al fondo del fantoma de ojo una vez que ya no experimenta ningún campo magnético.

Similarmente, la figura 96 muestra seis imágenes relacionadas a la retirada de imanes con magnetización diametrical del fantoma de ojo después de 28 días. En a), b), c), d) y e) se muestran la separación del primero, segundo, tercero, cuarto y quinto imanes de derecha a izquierda de cada imagen, respectivamente, de la superficie del fantoma de ojo, y en f) la precipitación y deposición final de las partículas magnéticas. Se observó que al

ir retirando los imanes el ferrofluido pasó de un imán a otro en poca cantidad, quedando depositado sobre la superficie interior del fantoma de ojo donde la interacción magnética entre los elementos del sistema había sido mayor. Además, solamente se vio precipitación del ferrofluido en los imanes de ambos extremos.

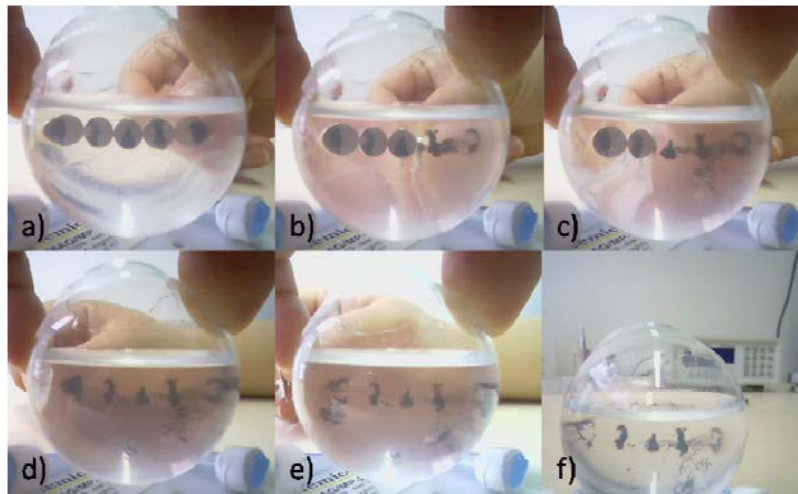


Figura 96. Imágenes de la retirada de imanes con magnetización diametrical del fantoma de ojo después de 28 días. En a), b), c), d) y e) se muestran la separación del primero, segundo, tercero, cuarto y quinto imanes de derecha a izquierda de cada imagen, respectivamente, de la superficie del fantoma de ojo, y en f) la precipitación y deposición final de las partículas magnéticas.

En un inicio se esperaba que las partículas magnéticas se hubieran precipitado al fondo del fantoma de ojo, sin embargo esto no ocurrió debido a que la fuerza magnética experimentada por el ferrofluido excedió las necesidades de interacción, ya que éste logró incrustarse sobre la superficie del fantoma de ojo, manteniéndose en esa situación hasta que el suero fisiológico se evaporó por completo. Lo anterior se muestra en la figura 97, que es la evolución del ferrofluido después de haber retirado los imanes con magnetización diametrical en a) 1 semana, y b) 3 semanas.

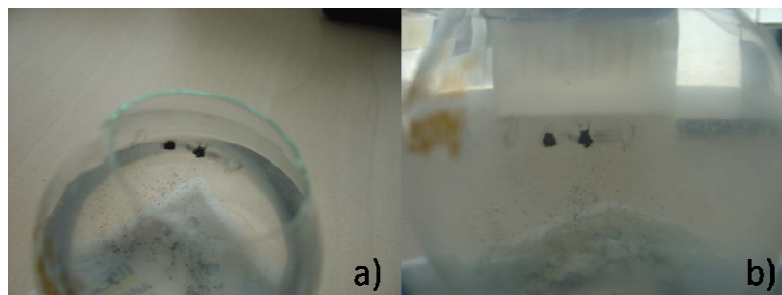


Figura 97. Evolución del ferrofluido después de haber retirado los imanes con magnetización diametrical en a) 1 semana, y b) 3 semanas.

Comparativamente, es de destacar la importancia que toma la consideración de la fuerza magnética experimentada por las partículas magnéticas contra la presión que ejercen éstas sobre la superficie de interés. Esto se deduce de la diferencia que hubo de comportamiento entre los dos experimentos. En el de imanes con magnetización sobre el eje Z, las partículas magnéticas no experimentaron una magnetización que les provocara una adherencia definitiva al vidrio del fantoma, tal y como sucedió en el experimento con imanes de magnetización diametrical, en el cual las partículas se mantuvieron en el vidrio hasta por tres semanas. Esta situación cobra relevancia de cara a la aplicación oftalmológica que se les deseaba dar, puesto que existiría el riesgo de penetrar retina, coroides e inclusive migración masiva hacia la esclerótica.

Por otro lado, las diferencias entre ambos experimentos dieron mayor sustento a las consideraciones para la elección del tipo de imán a utilizar en la fabricación de los explantes magnéticos que se suturarían al ojo del conejo.

El experimento final tuvo como objetivo demostrar la efectividad en la interacción del sistema ocular utilizando la cuarta tanda de copos magnéticos. Estos copos ya tenían, de acuerdo a la caracterización magnética hecha con el

AGFM, el nivel de magnetización necesario para interactuar con los imanes seleccionados. Por otro lado, puesto que la producción de copos magnéticos no se puede realizar a niveles industriales aún, se utilizaron 10 μ l del ferrofluido en concentración de 50 mg/ml, con la finalidad de minimizar las pérdidas de material.

Los resultados se muestran en la figura 98, que es una secuencia de imágenes de la inserción de los copos magnéticos utilizando imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) la colocación de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, en b) la deposición en el primer y segundo imanes de ferrofluido, en c) la precipitación de ferrofluido al fondo del fantoma de hoja, y en d) una vista de la atracción del ferrofluido hacia el primer imán. La primera observación notable fue el escaso ferrofluido depositado en los imanes debido a la concentración del mismo. Además, se observó una atracción de la mayoría de los copos magnéticos sobre la superficie de los imanes. Hubo pequeños cúmulos de copos que se precipitaron hacia el fondo del fantoma de ojo, en primera instancia se debió al roce de la pipeta contra el suero fisiológico al insertar el ferrofluido, pero también puede ser causado por la inexistencia o poca cantidad de material magnético en los copos, ya que por su fabricación puede ocurrir.

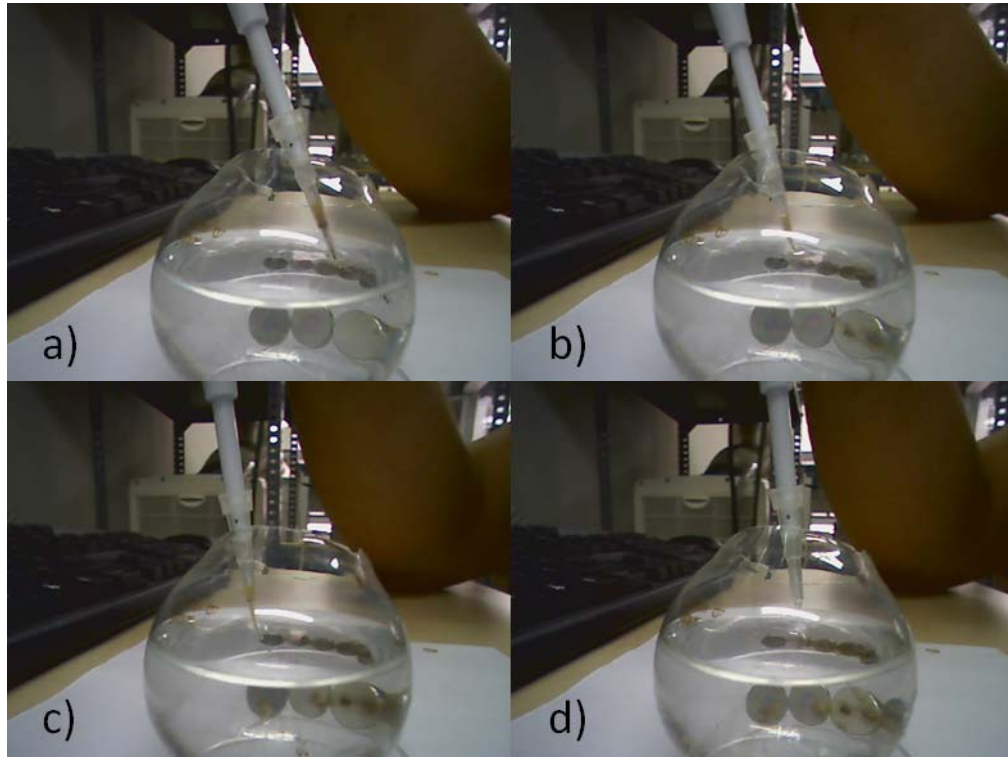


Figura 98. Secuencia de imágenes de la inserción de los copos magnéticos de imanes con magnetización sobre el eje Z. En a) la colocación de la pipeta manual con los 10 μ l de ferrofluido, en b) la deposición en el primer y segundo imanes de ferrofluido, en c) la precipitación de ferrofluido al fondo del fantoma de hoja, y en d) una vista de la atracción del ferrofluido hacia el primer imán.

Resumiendo, la experimentación in vitro sentó las bases para el entendimiento de los fenómenos magnéticos que ocurrirían una vez puesto el sistema ocular en el ojo de conejo. Además, permitió identificar las posibles barreras a encontrar en la experimentación in vivo como:

- La precipitación de ferrofluido al contacto con el medio en el cual se insertan.
- Residuos de ferrofluido en el utensilio empleado para insertar el ferrofluido.
- Importancia de la presión ejercida por las partículas magnéticas sobre la superficie de contacto.

- Posibilidad de migración del ferrofluido.
- Cantidad de ferrofluido a insertar en los ojos de conejo.

Para dar continuidad al proyecto se planteó la realización de ensayos con animales como sigue.

6.7.6.2 Evaluación In Vivo

Para hacer la evaluación del dispositivo ocular in vivo se hicieron uso de las instalaciones del área experimental del Hospital Universitario Ramón y Cajal para mantener a los 30 conejos utilizados bajo observación.

El estudio tuvo como objetivo valorar la biocompatibilidad del Dispositivo Ocular que ha sido patentado [García et al., 2012] compuesto de un ferrofluido a base de copos magnéticos y un explante que se puede suturar a la esclerótica, ambos han sido diseñados y fabricados especialmente para el proyecto con características adaptadas a la cirugía practicada por los médicos para la reapiación de la retina. Además, el estudio también tuvo como fin la evaluación biomecánica del dispositivo.

Se utilizaron 30 conejos neozelandeses que fueron divididos en tres grupos de 10 conejos para completar las tres fases propuestas. En la primera fase se estudió el dispositivo en ojos de conejo sin vitrectomizar, realizando solo la colocación del explante magnético y la inyección intra-vítrea o intra-camerular anterior del ferrofluido:

- 1) En 5 de ellos se inyectó el ferrofluido en la cámara vítrea y se colocó el imán escleral en el ojo izquierdo, para ser sacrificados al mes de la inyección, estudiando la anatomía patológica del globo

ocular operado y comparándola con la del ojo adelfo usado como control.

- 2) En 2 de ellos se inyectó el ferrofluido en la cámara vítrea y se colocó el imán escleral en el ojo izquierdo, para ser sacrificados al mes de la inyección, estudiando la concentración de taurina en las células de la retina del ojo izquierdo y comparándolas con las del ojo adelfo. Además se valoró el comportamiento mecánico del dispositivo in vivo post mortem.
- 3) En 2 de ellos se inyectó el ferrofluido en la cámara anterior y se colocó el imán escleral en el ojo izquierdo, para ser sacrificados al mes de la inyección, estudiando la anatomía patológica del globo ocular operado y comparándola con la del ojo adelfo usado como control.
- 4) En 1 de ellos se inyectó el ferrofluido en la cámara anterior y se colocó el imán escleral en el ojo izquierdo, para ser sacrificados al mes de la inyección, estudiando la concentración de taurina en las células de la retina del ojo izquierdo y comparándolas con las del ojo adelfo. Además se valoró el comportamiento mecánico del dispositivo in vivo post mortem.

En la segunda fase se estudió el dispositivo en ojos de conejo previamente vitrectomizados, realizando la colocación del explante magnético y la inyección intra-vítrea o intra-camerular anterior del ferrofluido, no se hizo faco-emulsificación del cristalino:

- 1) En 7 de ellos se hizo la vitrectomía completa evitando romper la cápsula del cristalino e inyectando el ferrofluido en la cámara vítrea y el explante magnético en el ojo izquierdo. Al mes de la inyección fueron sacrificados, estudiando la anatomía patológica del globo ocular operado y comparándola con la del ojo de control.
- 2) En 3 de ellos se realizó una vitrectomía lo más completa posible, pero evitando romper la capsula del cristalino, se inyectó el ferrofluido en la cámara vítrea y se colocó el imán escleral en el ojo izquierdo. Fueron sacrificados al mes de la cirugía para el estudio de la concentración de taurina en las células de la retina del ojo izquierdo y compararlas con las del ojo adelfo. A su vez, se estudió in vivo el comportamiento mecánico del dispositivo.

Finalmente, la tercera fase se estudió el dispositivo en ojos de conejo previamente faco-vitrectomizados, realizando la colocación del explante magnético y la inyección intra-vítrea o intra-camerular anterior del ferrofluido, no se hizo faco-emulsificación del cristalino:

- 1) En 7 de ellos se realizó una vitrectomía lo más completa posible, pero sin indentación, se inyectó el ferrofluido en la cámara vítrea y se colocó el imán escleral en el ojo izquierdo. Fueron sacrificados al mes de la inyección, estudiando la anatomía patológica del globo ocular operado y comparándola con la del ojo de control.
- 2) En 3 de ellos se realizó una vitrectomía lo más completa posible, pero sin indentación, se inyectó el ferrofluido en la cámara vítrea y

se colocó el imán escleral en el ojo izquierdo. Fueron sacrificados al mes de la cirugía para el estudio de la concentración de taurina en las células de la retina del ojo izquierdo y compararlas con las del ojo de control.

Por otro lado, en todos los grupos se realizaron exploraciones del estado de la cámara anterior con lámpara de hendidura, medida de la PIO, y estudio del fondo de ojo mediante oftalmoscopia indirecta; todo ello para la evaluación biomecánica del dispositivo. Estas exploraciones se programaron justo antes del procedimiento quirúrgico, al día siguiente, a la semana, a los 15 días y al mes del procedimiento, justo antes del sacrificio de los conejos.

En este caso, para el análisis de la PIO se tomaron los mismos criterios que cuando se evaluó la biocompatibilidad de los materiales para el dispositivo ocular. Para tal fin, las figuras 99, 100 y 101 muestran la evolución experimentada por la PIO en los 30 conejos de acuerdo a las fases experimentales: primera fase, segunda fase y tercera fase, respectivamente. Se puede observar que para las PIOs de las fases 1 y 3, éstas evolucionan de mejor manera que las de la fase 2. Además, comparativamente con las presiones registradas en la experimentación con las partículas comerciales, ambos ojos en todas las fases tienen una mejor evolución en general. El primer punto se atribuye a que las fases 1 y 3 se completaron de mejor manera a nivel metodológico que la fase 2. En el caso de la segunda aseveración puede ser consecuencia del diseño intrínseco de las partículas utilizadas ya que su morfología y proceso de fabricación permiten una mejor interacción biológica

con el medio, por esta razón no se observan diferencias abruptas entre los ojos izquierdos y derechos como en el caso de las partículas comerciales.

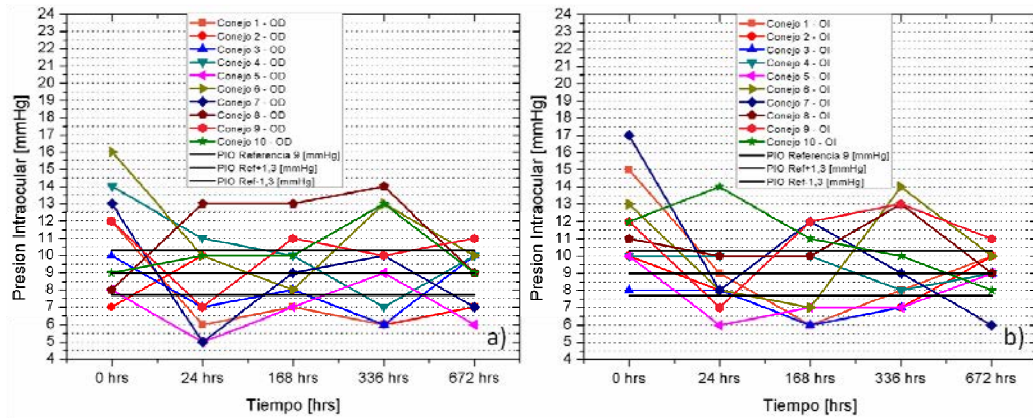


Figura 99. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos de la fase 1: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.

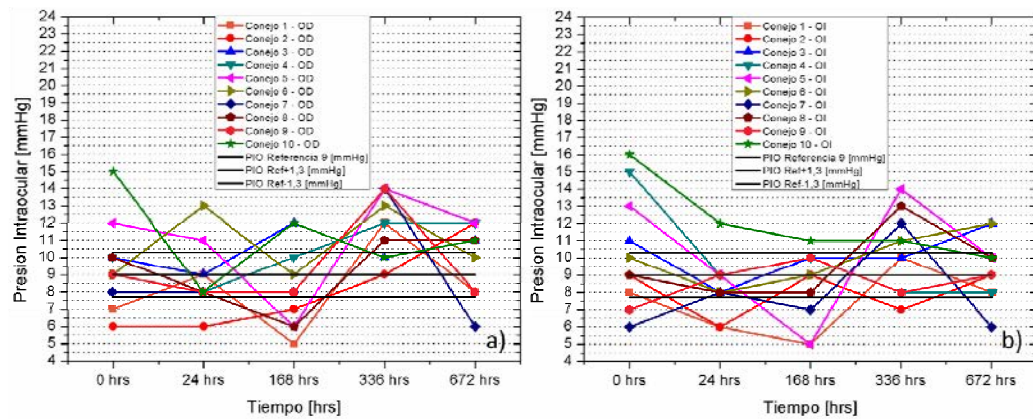


Figura 100. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos de la fase 2: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.

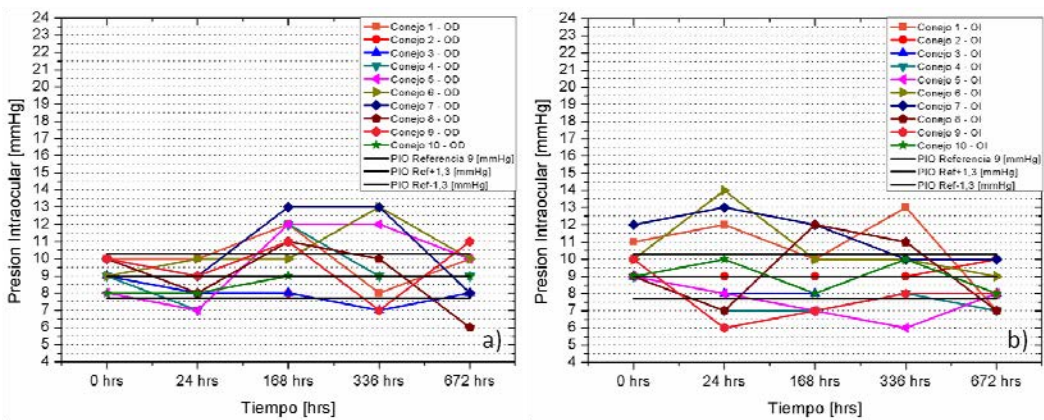


Figura 101. Tendencia evolutiva de la PIO en los conejos de la fase 2: en a) el ojo derecho y en b) el ojo izquierdo.

Lo mencionado anteriormente, es más visible si se observa la evolución de la mediana en las tres fases a modo de comparación entre las del ojo de control y el experimental; para esto se presentan las figuras 102, 103 y 104. Se observa que en las tres fases la evolución de la mediana de los ojos izquierdos de los conejos es más consistente, es decir se mantiene más cercana a la referencia propuesta, que la mediana de los ojos derechos, esto al igual que en la sección analizada para los materiales escogidos, hace suponer que la presencia de las partículas magnéticas de morfología no convencional tipo copo no representan una amenaza importante cuando están inmersas en el ojo.

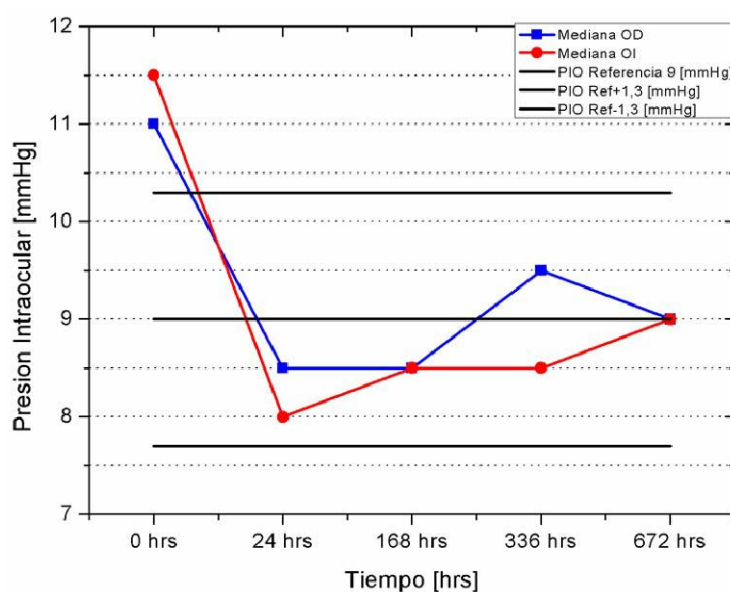


Figura 102. Gráfica de comparación entre las medianas del ojo de control y el experimental de los 10 conejos neozelandeses de la fase 1.

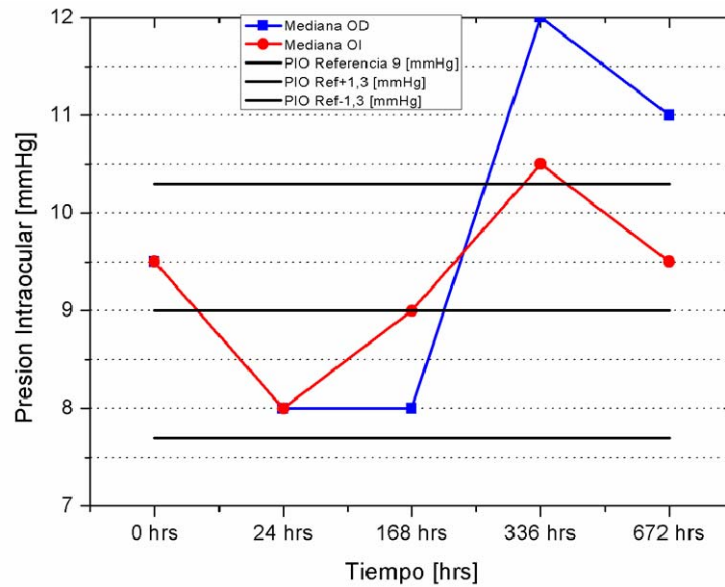


Figura 103. Gráfica de comparación entre las medianas del ojo de control y el experimental de los 10 conejos neozelandeses de la fase 2.

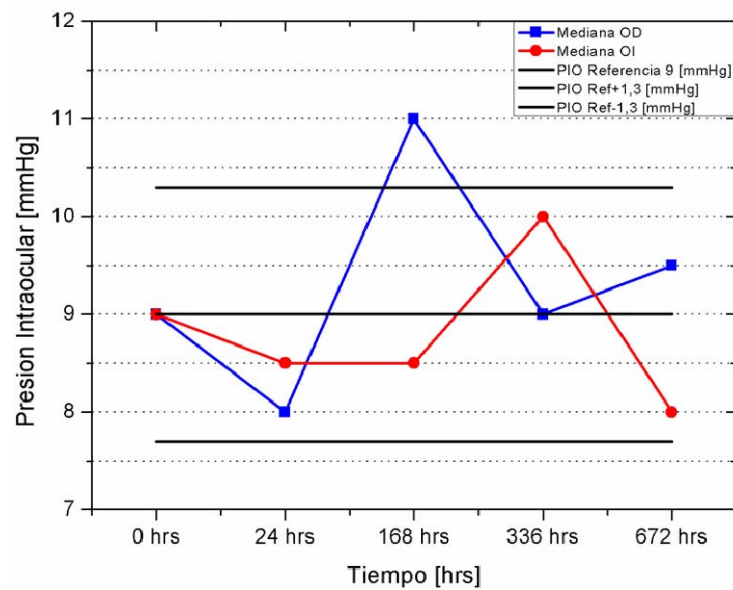


Figura 104. Gráfica de comparación entre las medianas del ojo de control y el experimental de los 10 conejos neozelandeses de la fase 3.

Respecto al análisis cuantitativo de aminoácidos en las muestras retinianas, se observó que es difícil interpretar los resultados o la transcendencia de los mismos, ya que los conejos que aleatoriamente se destinaron a este estudio fueron sometidos a cirugías altamente traumáticas

que pudiesen ocasionarles reacción inflamatoria y desprendimiento de retina secundario. Además se observó que existe alternancia en la subida y bajada de los valores de los aminoácidos, siendo 50% y 50%. Por tanto, esta patología asociada hace que sea imposible determinar en efecto del dispositivo sobre la cantidad de aminoácidos por factor de confusión claro. Una posible explicación a la inversión de la tendencia en la concentración de aminoácidos sería la existencia de un proceso infeccioso que hubiese atraído gran cantidad de celularidad inflamatoria y con ellos una mayor concentración de aminoácidos, pero esta situación no se objetivó en las exploraciones macroscópicas ni en la disección del conejo. Por todo ello no podemos obtener resultados concluyentes de este análisis.

Por otro lado, tras el periodo de estudio y sacrificio de los animales, se procedió a analizar los resultados anatomopatológicos mediante estudio con tinción de Hoechst, prueba de TUNEL de apoptosis celular y tinción con tricrómico de Masson. También se estudiaron las alteraciones funcionales tisulares retinianas, mediante la cuantificación de taurina tisular con cromatografía de alta velocidad.

El Hoechst es un colorante fluorescente de ADN empleado en la microscopía de fluorescencia y en la separación celular por citometría de flujo. Por su capacidad de tinción, también se emplea para visualizar núcleos y mitocondrias. Se emplean habitualmente dos bisbenzimidaz muy relacionadas: Hoechst 33258 y Hoechst 33342. Ambos colorantes son excitados por luz ultravioleta con una longitud de onda cercana a los 350 nm y emiten

fluorescencia azul/cíán con un máximo de emisión de alrededor de 461 nm. Además, puede utilizarse tanto para células vivas como fijadas [Hawley and Hawley, 2004].

Los resultados para esta tinción nuclear se pueden revisar en la figura 105, en ella se observa: en a) un corte con tinción de Hoechst de control y en b) el corte con la misma tinción con contenido de ferrofluido. De acuerdo con los reportes de los profesionales involucrados en el estudio, en ninguna de las muestras se observó daño aparente en retina.

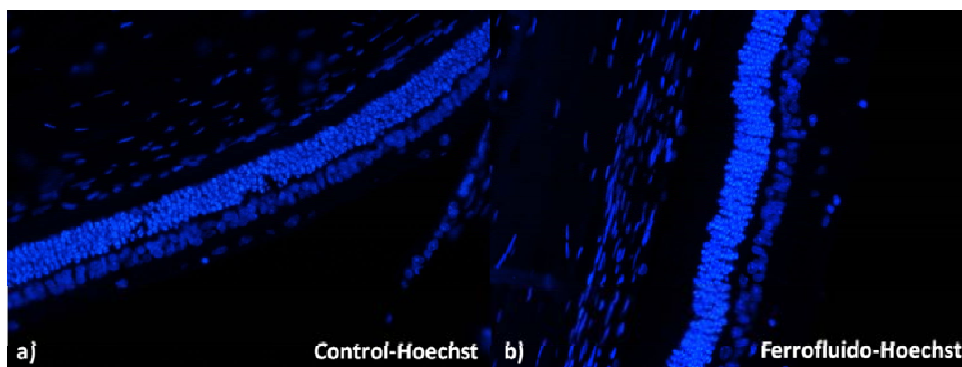


Figura 105. Estudio de tinción nuclear con Hoechst: en a) un corte con tinción de control y en b) el corte con la misma tinción conteniendo ferrofluido.

En el caso de la prueba de TUNEL, que es una metodología para detectar la muerte celular (apoptosis), en la mayoría de los conejos sometidos a dicha prueba dio negativo; solamente se observaron células apoptóticas en dos de las muestras donde existe infiltrado inflamatorio de polimorfonucleares que sugiere infección. Los resultados fueron comparados con control positivo de muestra de testículo de rata, túbulo seminífero. En la figura 106 se muestran los resultados obtenidos para la prueba antes mencionada: en a) un corte con el control, y en b) el corte conteniendo ferrofluido. De ella se concluyó que no hay muerte celular por apoptosis inducida por el ferrofluido.

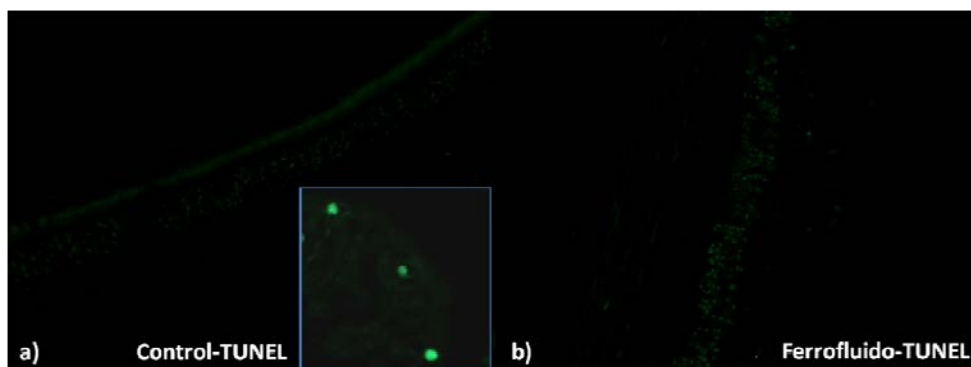


Figura 106. Prueba de TUNEL realizada en los conejos seleccionados: en a) un corte con el control, y en b) el corte conteniendo ferrofluido.

continuando, la tinción tricrómica de Masson es una técnica de coloración especial que permite visualizar claramente las fibras de colágeno tipo I que forman fibras gruesas o haces, diseñados para dar resistencia; también evidencia, aunque en menor intensidad, las fibras reticulares. Usualmente se emplean tres colorantes para diferenciar el núcleo celular, el citoplasma y las fibras de colágeno [García del Moral, 1993]. Para esta prueba con tinción con tricrómico de Masson se muestra en la figura 107, de ella, y tras la evaluación de los patólogos, no se observaron alteraciones estructurales en las muestras de retina tras la inyección del ferrofluido. La única alteración aparente es la existencia de un infiltrado inflamatorio escaso en el vítreo, linfo-monocitario generalmente, pero poco relevante, sin infiltración aparente en retina.

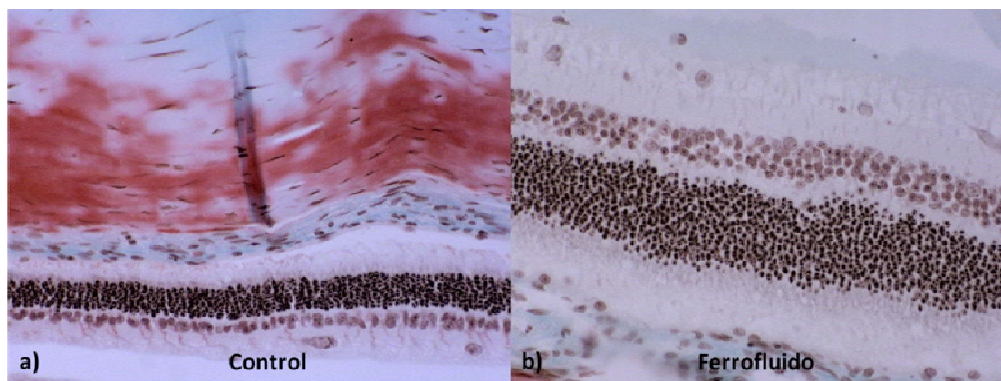


Figura 107. Prueba con tinción de Masson: en a) el corte de control, y en b) el corte que contiene ferrofluido.

En el caso del estudio inmunohistoquímico para el transportador de taurina se presenta la figura 108; la cual muestra: en a) el marcaje de retinas control, y en b) el marcaje de retinas con ferrofluido. Ambas muestras se definen por marcajes color pardo y núcleos en azul; en las retinas de control se observó marcaje en capa nuclear externa y límite con capa de fotorreceptores, en algunas células de la capa nuclear interna y en capa de células ganglionares, distribución perinuclear en ambas. En las muestras con ferrofluido, se observó un aumento de la señal en límite con fotorreceptores, en epitelio pigmentario y marcaje en prolongaciones celulares que parecen corresponder a células de Müller.

Además de todas las evaluaciones presentadas, se solicitó que el profesional experto valorara el funcionamiento biomecánico del dispositivo ocular en todos los conejos sujetos a estudio anatomopatológico, la figura 108 muestra: en a) un corte histológico del ojo de control, y en b) un corte similar al anterior pero en la zona de interacción magnética. De ella se puede identificar que el ojo de control no presenta ninguna alteración sobre la retina, ni en la capa nuclear externa. Por otro lado, se observa en el ojo experimental

que se ha inducido un importante daño sobre la retina en la zona justo por debajo del explante ocular magnético, con pérdida total de la capa nuclear externa y por tanto de fotorreceptores.

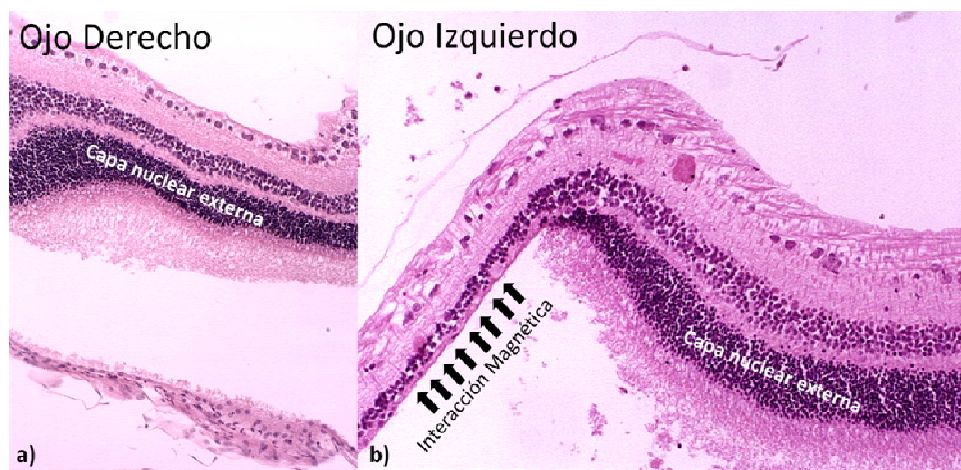


Figura 108. Imagen histopatológica de los conejos para la evaluación biomecánica del dispositivo ocular. En a) el ojo de control, y en b) el ojo izquierdo en la zona de interacción magnética.

Finalmente, durante las tres fases se fueron rellendo hojas de seguimiento de los conejos con información que posteriormente sería útil para análisis médico y evaluación tecnológica. La tabla XVIII contiene los indicadores considerados en cada fase: preoperatorio, 24 hrs, 15 días y al mes antes de ser sacrificados.

Tabla XVIII. Indicadores evaluados para su posterior utilización en análisis médico y funcional.

Indicador	Indicador
Hiperemia Conjuntival	FF en CA
Extrusión Explante	Miosis
Depósitos FF en pared ocular	Vitritis
Queratitis epitelial	Hemorragia Vítrea
Edema Estromal	Dispersión Ferrofluido
Seidel	Aplicación Retina
Amplitud Cámara Anterior	Patrón Vascular
Fibrina en CA	Nervio Óptico
Hyphema	Localización Ferrofluido
Catarata	Disposición FF
Reacción Fibrina FF	

De todos ellos se extrajeron para la evaluación funcional del dispositivo ocular los expuestos a continuación:

- 1) **Extrusión de explante ocular:** hace referencia a la salida del explante ocular de la órbita del ojo.
- 2) **Depósito de FF en pared ocular:** se refiere a la existencia de FF en las paredes internas del ojo.
- 3) **FF en cámara anterior:** presencia de FF en la cámara anterior del ojo.
- 4) **Dispersión de FF:** se refiere a la existencia de FF disperso en vítreo.
- 5) **Aplicación de la retina:** correcta colocación de la retina en su lugar en la zona de interacción magnética entre FF y explante ocular magnético.
- 6) **Localización del FF:** hace referencia a la ubicación correcta del FF en la zona de interacción magnética.
- 7) **Disposición del FF:** indica la colocación sobre la superficie de interacción magnética del FF.
- 8) **Fibrina debida al FF:** evalúa la existencia de fibrina cerca de la zona de interacción magnética o en vítreo.

De los ocho indicadores se han considerado cinco de ellos “no deseables”: extrusión del explante ocular, depósito de FF en globo ocular, FF en cámara anterior, dispersión de FF y fibrina debida al FF; y los otros tres como “deseables”: aplicación de la retina, localización del FF y disposición del FF. Se

hace esta consideración para diferenciar entre los indicadores que deben mantenerse lo más elevados posibles (deseables) y aquellos que deben estar lo más minimizados posible (no deseables). Para la evaluación del dispositivo se han considerado los 30 conejos de las tres fases para obtener los valores porcentuales de cada uno de los indicadores como se muestra en la figura 109; en ella se presentan los ocho indicadores en barras que corresponden al valor porcentual.

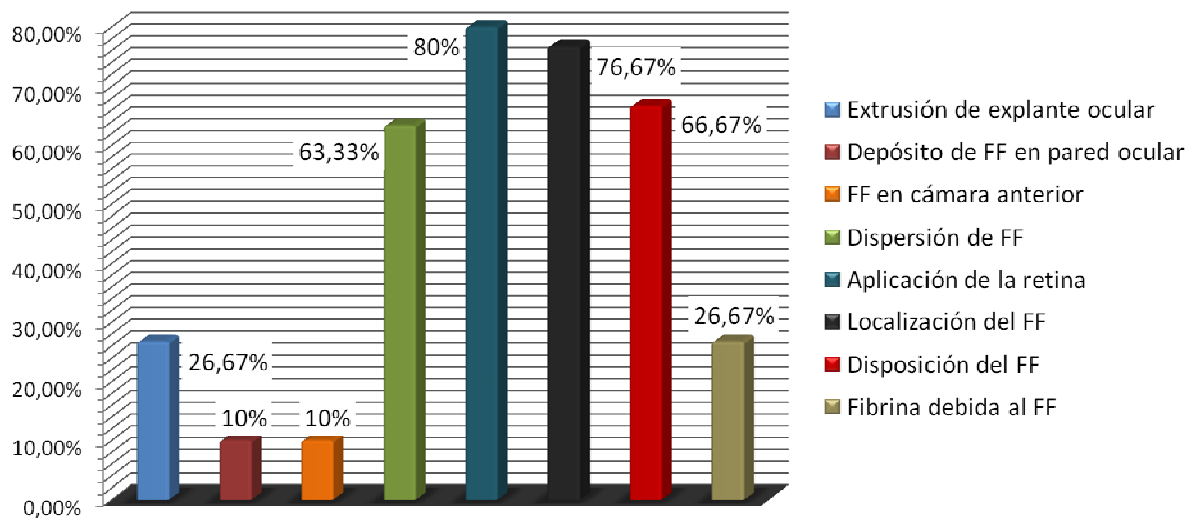


Figura 109. Indicadores seleccionados para la evaluación funcional del dispositivo ocular magnético. Las barras corresponden al valor porcentual de cada uno de ellos sobre los 30 conejos usados en las tres fases de experimentación.

Se han obtenido para los indicadores “deseables”: un 80% de efectividad en la corrección del desprendimiento de retina, en el 76.67% de los casos el FF estaba localizado sobre el agujero retiniano, y finalmente el 66.67% de éxito en la disposición correcta del FF sobre la cara activa del explante magnético. Para los indicadores “no deseables” se observaron: en el 10% de los casos la existencia de depósitos de FF en la pared ocular y cámara anterior, en el 26.67% de los conejos hubo extrusión del explante magnético y fibrina

ocasionada por el FF, y para terminar en el 63.33% de los casos existió dispersión del FF en el interior del ojo experimental.

Los porcentajes mostrados son resultados de las evaluaciones observacionales antes del sacrificio de los conejos, y cabe resaltar que las revisiones observacionales dependían en mucho de cómo se encontraran los ojos experimentales tras la intervención quirúrgica. Aunado a lo anterior, también existió una fuerte dependencia con el cambio en la forma de hacer la intervención quirúrgica que, como se mostró en la metodología seguida para cada fase, ésta varió desde no vitrectomizados hasta faco-vitrectomizados. Todo esto causó en varios ojos que la evaluación observacional no se pudiera hacer, es decir, no se veía el fondo de ojo ni la zona de vítreo, haciendo que la estadística decayera en los valores presentados en los indicadores “deseables”, y aumentando los indicadores “no deseables”.

Por otro lado, el indicador “no deseable” que hace referencia a la dispersión de FF en el interior del ojo experimental tuvo un valor excesivo si se considera que la existencia de FF en el vítreo pudiese causar siderosis o algún tipo de toxicidad, y aunque en la evaluación histopatológica han resultado negativos ambos puntos, es imprescindible que no queden residuos libres en el interior del ojo. Para tal fin, se ha identificado que la deposición de FF en el interior del ojo es debida a la inserción y extracción de la jeringa con la que se libera el FF. Cuando la jeringa es insertada, hace contacto con el líquido en el interior del ojo, cambiando la tensión superficial en la punta de ésta y produciendo que se suelten las partículas que están en esa zona. Además,

cuando se termina de liberar el FF siempre queda una cantidad residual en la misma punta, la cual por simple movimiento puede precipitarse hacia el interior del ojo.

En el caso del indicador de la extrusión del explante, éste se elevó hasta el 26.67% porque en la primera fase, el recubrimiento de los explantes resultó excesivo, una vez identificado el problema éste se optimizó, lo cual en fases posteriores minimizó el indicador; únicamente se presentó una vez más pero fue consecuencia de la metodología quirúrgica. Además, parte de la reducción de incidencia en la extrusión fue un cambio en la metodología de colocación del explante que, en vez de ponerse sobre la órbita ocular, se separó la conjuntiva de la esclerótica para usarla como envoltorio del dispositivo.

En el caso del indicador del depósito de FF en las paredes oculares, éste está ligado directamente con el alto índice de incidencia en la existencia de FF en el interior del ojo, ya que al desprenderse de la punta de la jeringa en unas ocasiones quedaban flotando en el suero fisiológico o vítreo, y en otras se precipitaban hacia las paredes internas del globo ocular.

La existencia de FF en la cámara anterior fue una consecuencia de la extrusión del explante ocular magnético de la órbita ocular, que al irse saliendo iba atrayendo a las partículas hacia la cámara anterior de ojo. Situación similar ocurrió con la fibrina ocasionada por el FF, que no es casualidad que ambos indicadores tengan la misma incidencia (26.67%).

De modo que se podría asegurar que, como ya se conocen las causas que provocan la existencia de los indicadores “no deseables”, éstos pueden ser

minimizados en nuevas fases experimentales, incluyendo el de dispersión de FF en el interior de ojo cuyo porcentaje alcanzaba el 63.33%.

Es importante destacar que los tres índices con incidencia positiva sobre la evaluación del dispositivo ocular, una vez fueron sacrificados los conejos, se pudo ratificar que el 100% de los ojos sometidos a cirugía, incluyendo los que habían sufrido extrusión del explante ocular magnético, tenían correctamente aplicada la retina y con el FF ubicado en la zona de interacción magnética; por tanto se puede decir que el dispositivo cumple eficazmente con su propósito: servir como taponador para el agujero retiniano en un desprendimiento de retina. Además, se puede hacer mención a un espécimen que tuvo un desgarro de retina completo cuando estaba siendo intervenido, en ese momento los oftalmólogos decidieron usar el FF para frenar el desgarro y taponar el agujero provocado por éste. La evolución del conejo fue una de las mejores durante el mes de observación y permitió visualizar el potencial del dispositivo como equipo auxiliar quirúrgico. Aunado a esto, los 30 conejos no han requerido ninguna postura especial para que la retina cicatrizara correctamente, y aparentemente la postura craneal que les permite ver, ha vuelto a la normalidad tras la intervención quirúrgica cuando esta ha tenido un 100% de éxito.

Finalmente, los conejos que tuvieron extrusión del explante ocular magnético, puesto que dicha extrusión se dio aleatoriamente en el tiempo, es decir no todas ocurrieron al mismo tiempo ni el mismo día; y al mes se les observó que la retina estaba perfectamente aplicada en su lugar, da pauta a

pensar no solamente que es efectiva la técnica desarrollada sino que inclusive puede mejorar el tiempo de reaplicación de la retina comparativamente con las soluciones actuales.

De manera general y haciendo un balance de todo lo expuesto en esta sección, en primera instancia se observa que la inserción del FF no es un precursor para el aumento o disminución de la PIO, ya que de acuerdo con las gráficas presentadas, el ojo que ha sido sometido a intervención quirúrgica se mantiene dentro de los límites establecidos para la consideración de una PIO normal de los conejos. Por otro lado, la información extraída de las tres fases llevadas a cabo parecen indicar que el FF per sé no tiene efecto citotóxico sobre la retina, e inclusive los cambios observados en la taurina podrían ayudar con el buen mantenimiento de la integridad celular ante la presencia de cuerpos extraños e inflamación en los ojos que ocurren por la intervención quirúrgica. Se ha determinado que ni el FF produce apoptosis ni el explante ocular provoca reacción inflamatoria sobre la esclerótica o conjuntiva (ausencia de hiperemia conjuntival). Desgraciadamente, sí se observaron daños severos en la zona de interacción magnética sobre la retina, especialmente en la capa nuclear externa, provocando necrosis severa a consecuencia de la presión ejercida sobre la retina; sin embargo de esta situación no están exentas ninguna de las soluciones actualmente usadas para taponar los agujeros retinianos y de acuerdo con [Trese et al., 2012], tampoco de soluciones donde se hace uso de la genética. Puesto que hasta este momento ha sido probado únicamente el prototipo y ambas partes del dispositivo ocular pueden ser optimizadas, existe

la posibilidad de lograr minimizar o evitar la muerte celular debida al aplastamiento provocado por la interacción magnética entre FF y explante magnético, este es uno de los valores más importantes añadidos de las tecnologías desarrolladas para solucionar el DR. Además de lo anterior, el paciente puede gozar de un postoperatorio mucho más cómodo al evitar tener que mantener posturas cefálicas incómodas; un postoperatorio con buena agudeza visual (AV) al evitar el efecto óptico de gases y siliconas que para ejercer su efecto deben rellenar todo el interior del ojo; y por último, evitar los efectos secundarios de los taponadores como catarata e inflamación, así como de recidiva del DR.

6.7.7 Caracterización de la presión ejercida por las PMs

Hasta ahora no se había investigado nada relativo a la presión ejercida por partículas magnéticas sobre una superficie. Su caracterización resulta de suma importancia ya que puede ofrecer información acerca de la dosificación necesaria para provocar un efecto positivo sobre la retina.

Para tal fin, se sugirió la siguiente metodología en lo que a presión ejercida por las partículas magnéticas se refiere:

1. Estudio de las fuerzas implicadas en la presión ejercida por las partículas magnéticas.
2. Caracterización del explante usado y las partículas magnéticas.
3. Experimentación en las instalaciones del Instituto de Ciencia de Materiales de Barcelona (ICMAB) y colaboración del Centro Nacional de Microelectrónica (CNM).

4. Análisis de resultados.

5. Valoración y optimización de los métodos empleados.

Para el primer punto se han identificado dos fuerzas principales que actuarán sobre la presión ejercida por las partículas magnéticas sobre una superficie: la fuerza hidrostática, ya que las partículas están sumergidas en el humor vítreo; y la fuerza magnética, debida a la colocación de un explante en la esclerótica.

El conjunto de líquidos en el interior del ojo constituye un sistema líquido estacionario. La hidrostática usada para el cálculo de presiones en el aceite de silicona no es aplicable en nuestro caso, ya que no estamos en el caso de dos líquidos inmiscibles, como lo son las burbujas de silicona en un medio acuoso. En ese supuesto, el efecto de taponamiento se basa en el empuje hidrostático y en la tensión superficial.

El término hidrostática se aplica al estudio de los fluidos en reposo. Un fluido encerrado en un recipiente ejerce una presión contra las paredes del mismo, y contra la superficie de cualquier objeto sumergido en él [Bru, 2009]. El valor de la presión en un punto se define como la razón de la fuerza dF ejercida sobre una pequeña superficie dA que comprenda a este punto:

$$P = \frac{dF}{dA} \quad (7-1)$$

La presión no es una magnitud vectorial y no puede asignársele una dirección. Si un fluido se encuentra en reposo, las fuerzas que ejerce sobre cualquier objeto sumergido en él son perpendiculares a su superficie y de igual magnitud. En el presente caso, las fuerzas hidrostáticas que se consideran son

la que ejerce el vítreo sobre las partículas, al estar éstas inmersas en él. Debido a las características de las fuerzas, cuando la partícula está libremente disuelta en el medio, las fuerzas se anulan por razón de simetría.

Cuando las partículas se acercan a la retina y se colocan a modo de tapón, ya no se produce esta compensación de fuerzas a lo largo de toda su superficie. Si cuando forman el tapón tienden a hacerlo dejando pocos huecos entre ellas, el líquido no pasará y la compensación de la fuerza por la parte interior (la cercana a la retina) será menor, luego la resultante tenderá a acercar las partículas a la retina, que experimentará la presión de forma indirecta a través de éstas. Entonces, experimentará la suma de la presión intraocular y la presión añadida por el tapón. Es decir, la presión intraocular empieza a actuar cuando las partículas adoptan la forma de tapón del agujero retiniano. En el caso de que las partículas formen el tapón dejando huecos entre ellas, la fuerza resultante será menor, por lo que la retina experimentará una presión de empuje también menor.

En la práctica, los médicos analizan las presiones en el interior del ojo considerando dos líquidos inmiscibles (la burbuja de aire y el humor vítreo). En ese caso, la presión que ejerce la burbuja sobre la retina es de unos 0.07 mmHg, que es magnificada 10 veces en el proceso de expansión que se detalló con anterioridad. Esta presión es muy distinta de los 15 mmHg de presión intraocular que las personas tienen de media [Stephen J. Ryan, 2009]. En el presente trabajo se espera medir con el sensor una presión en el rango de 0.5-

1.5 mmHg usando partículas, pero el efecto de las fuerzas hidrostáticas no se pudo comprobar con la experimentación llevada a cabo.

Por otro lado, la fuerza magnética que experimentarán las PMs se ha detallado en 6.1, y en la sección 6.7.5.2 se ha presentado la caracterización del explante ocular magnético diseñado y fabricado en el LBN. Además en las secciones 6.7.2.1 y 6.7.5.1 se han mostrado las caracterizaciones magnéticas de las partículas empleadas para la experimentación, así como el diseño y parte de la fabricación de los copos magnéticos. Todo lo anterior permite hacer un acercamiento matemático y real de la fuerza experimentada por las PMs y que será la causante de la presión sobre la retina.

El objetivo buscado con la experimentación en colaboración con los grupos de investigación del ICMA B y CNM, estaba orientado a identificar si efectivamente las partículas con morfología no convencional tipo copo resultaban mejores que las esféricas. La hipótesis hacía referencia a que las partículas tipo copo se posicionan de mejor manera sobre la retina, ya que dejan menos espacios entre ellas y los huecos adquieren una forma de laberinto, por lo que conductividad es muy baja y la masa de partículas no deja pasar líquido; esto se puede observar en la figura 110: en a) cómo se colocan las partículas comerciales esféricas y en b) la colocación esperada por los copos.

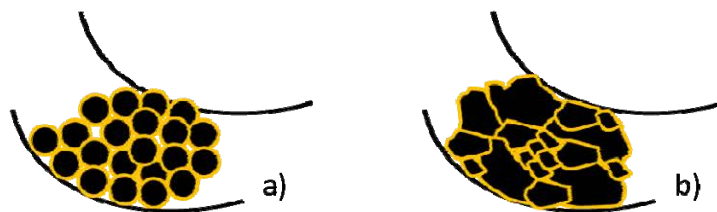


Figura 110. Comparativa entre la colocación esperada de las partículas magnéticas utilizadas en el estudio: en a) partículas comerciales y en b) los copos magnéticos.

6.7.7.1 Esquema y montaje de experimentación

El esquema general seguido para la experimentación se muestra en la figura 111. En ella se observa el esquema completo del montaje requerido para colocar las partículas magnéticas por encima del sensor de presión. Dicho sensor es extensiométrico y está acoplado a una lente, y dependiendo del volumen colocado de partículas, su forma y campo magnético aplicado; será la resistencia experimentada por el sensor, que es la magnitud cuya evolución en el tiempo el equipo detecta.

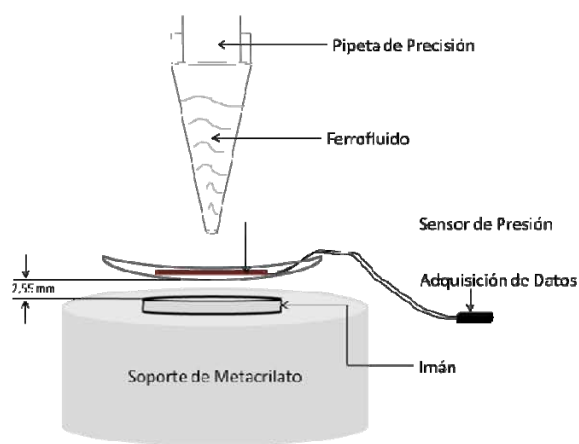


Figura 111. Esquema propuesto para la obtención de la presión ejercida por partículas magnéticas cuando se aplica un CME.

El sensor es una superficie circular de 3.5 mm de diámetro y un grosor de 25 μm , constituido por una película bicapa, fabricado a partir de una lámina flexible y transparente de policarbonato, cubierta en una de sus caras por una

fina capa de cristales nanoestructurados de un conductor molecular orgánico. Este tipo de sensor es altamente piezorresistivo, debido a la blandura de los nanocristales de la sal conductora embebidos en la superficie de la matriz polimérica, que son deformados, provocando un cambio de sus propiedades conductoras [Laukhina et al., 2010, Laukhin et al., 2011]. La figura 112 muestra una vista superior de cómo está incrustado el sensor en la lente aplanada y los componentes que tiene. Los conectores del sensor son de grafito y los cables que unen el sensor con los conectores son de platino; y finalmente, los cables que conectan el sistema con el dispositivo de medida son de cobre.

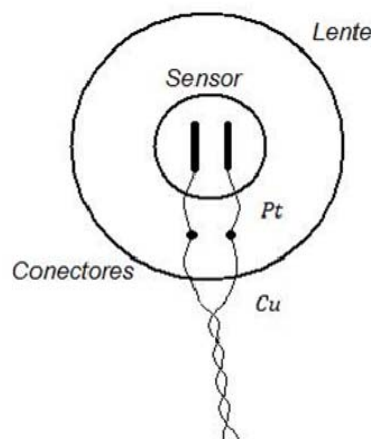


Figura 112. Vista superior del sensor utilizado para medir la presión experimentada por las PMs a un CME.

Para la adquisición de datos se tienen dos opciones: 1) multímetro comercial de Agilent (el modelo 34970A), o 2) dispositivo "Glauco" fabricado a diseño por el CNM; ambos dispositivos tienen la misma función, que es la medida de los cambios de resistencia inducidos en el sensor al deformarlo.

En el montaje para la experimentación se tuvieron las siguientes consideraciones: a) hacer uso de un material no magnetizable para evitar ruido en las medidas, y b) variar la distancia entre la fuente magnética y el sensor.

Establecidos los términos del montaje, éste quedó como se muestra en la figura 113, en la cual se ve en: a) una vista a 45° del montaje, y en b) una vista lateral del mismo montaje. El material propuesto para la eliminación de ruido magnético fue el metacrilato, puesto que ya se había comprobado en el LBN que no tiene ninguna respuesta magnética, y para la variación de la distancia entre imán y sensor se hizo uso de una pinza de agarre soportada en un brazo de metal.

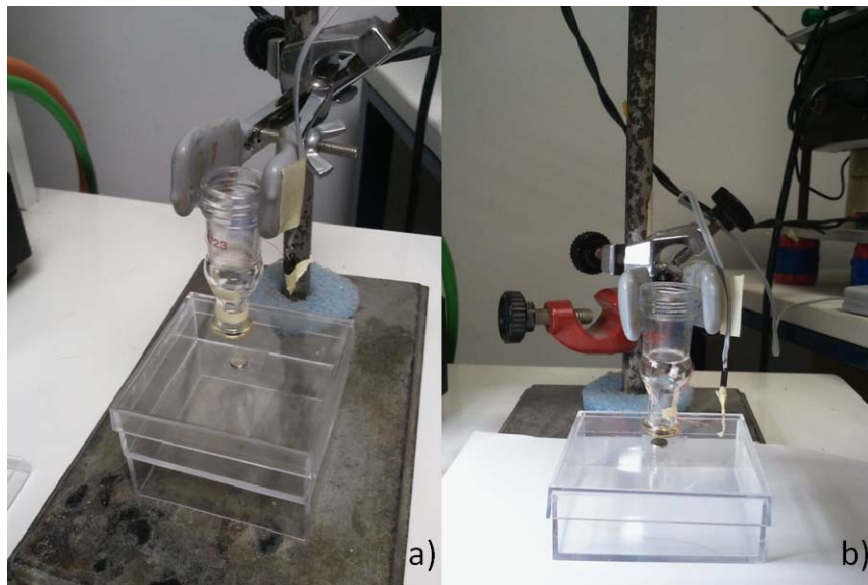


Figura 113. Montaje hecho para la experimentación: en a) una vista a 45°, y en b) una vista lateral.

Sin embargo, la extremada sensibilidad a la temperatura mostrada por el sensor de presión cuando se movía la caja de metacrilato hizo que se replanteara la utilización del montaje. Lo anterior se atribuye a que la mayor parte de la señal era debida a la reflexión del calor en la caja de metacrilato. Por tanto, era necesario usar un soporte para el imán donde la superficie alrededor de éste fuera la mínima posible, para evitar que el calor se reflejara e interfiriera en la medida. Para sopesar las interferencias encontradas se planteó

la utilización de un montaje como el mostrado en la figura 114: en a) una vista a 45°, en b) una vista lateral y en c) una vista superior; todas ellas del montaje finalmente utilizado. En ella se observa que la caja de metacrilato se sustituyó por una pieza de acoplamiento de la cual sobresale un tornillo, pero este tipo de montaje presenta un problema, que es la modificación del campo magnético que introducirá la colocación del imán sobre la superficie de un tornillo. Sin embargo, esta situación se sopesa mejor que el problema de la sensibilidad térmica, ya que dicha señal hacía ver nula la interacción magnética.

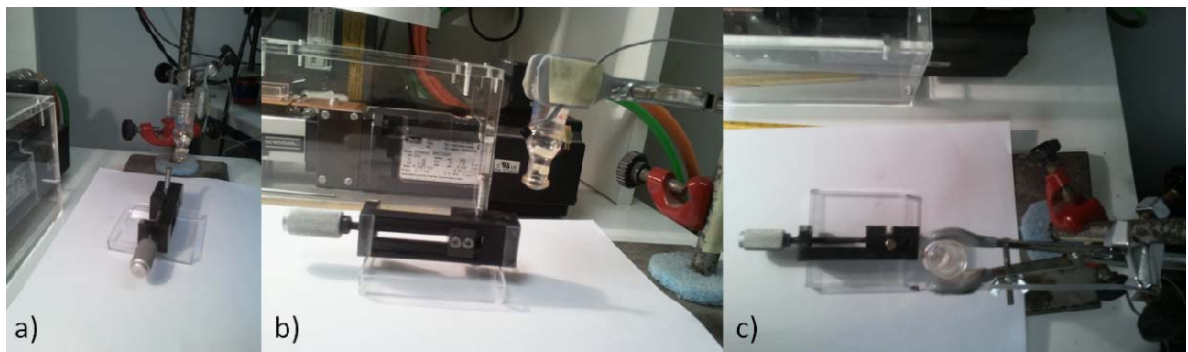


Figura 114. Montaje finalmente utilizado para la experimentación: en a) una vista a 45°, en b) una vista lateral y en c) una vista superior.

Una vez definido el montaje a utilizar, se pasó a la prueba del mismo y posteriormente a la experimentación. Cabe hacer un paréntesis para presentar las características del sistema de adquisición de datos utilizado, que de acuerdo a lo mencionado arriba se optó por la versión hecha en el CNM.

“Glauco” es un aparato portátil diseñado para monitorizar la presión intraocular de forma no invasiva, usando una lente de contacto. Dispone de una interfaz de usuario y se conecta al ordenador mediante Bluetooth. El hecho de que los datos se transmitan de forma inalámbrica responde a la necesidad de garantizar la comodidad del paciente. En este caso se empleó para realizar las

medidas de presión en la lente sobre la que colocábamos las partículas. Debido a la pequeña área disponible, el sistema no se alimenta mediante batería. Por estas especificaciones, el aparato no tiene más opción que ser un Application Specific Integrated Circuit (ASIC) montado sobre la superficie del sensor, para mayores especificaciones se puede revisar [Laukhin et al., 2011].

Cuando ya se tienen todos los equipos integrados lo primero que hay que realizar es una calibración del sistema, la cual nos sirve como referencia para poder hacer los cálculos correspondientes a posteriori. Para calibrar se dispone de un manómetro casero de columna basado en agua, al que se le acopla el sistema de sensado descrito anteriormente y que se presenta en la figura 115, en la cual se observa: en a) la vista de la parte superior del manómetro, en b) la parte inferior del mismo, y en c) una vista de la zona donde se coloca el sensor de presión para su calibración. En la configuración usada para calibrar, el sistema posee una caja protectora de poliuretano que ayuda a reducir la dependencia respecto de la temperatura, aislándolo térmicamente, y posee un sensor de temperatura de platino en el interior para compensar la dependencia respecto de ésta. Se realiza la medida de la temperatura en ohmios, y la conversión necesaria para conocer los grados correspondientes se realiza usando la tabla temperatura/resistencia para el platino (por ejemplo, 111.67Ω equivalen a 30°C).



Figura 115. Manómetro casero fabricado en el ICMAB para la calibración del sensor de presión. Se muestra: en a) la vista de la parte superior del manómetro, en b) la parte inferior del mismo, y en c) una vista de la zona donde se coloca el sensor de presión para su calibración.

El proceso consiste en dejar caer agua con el manillar azul superior para aumentar la presión (medida en mmH_2O) y así determinar la resistencia correspondiente que mide el sensor. Se hace un barrido con presión creciente, y después se deja caer agua con el manillar azul inferior para disminuir la presión y realizar el resto del barrido. Conforme se hacen los barridos con el “Glauco”, se dispone de la medida de resistencia para cada una de las presiones que conseguimos regulando la cantidad de agua. Se obtiene así una gráfica de equivalencia entre presiones en mmH_2O e incrementos de resistencia, como la mostrada en la figura 116, y que corresponde a la calibración del sistema.

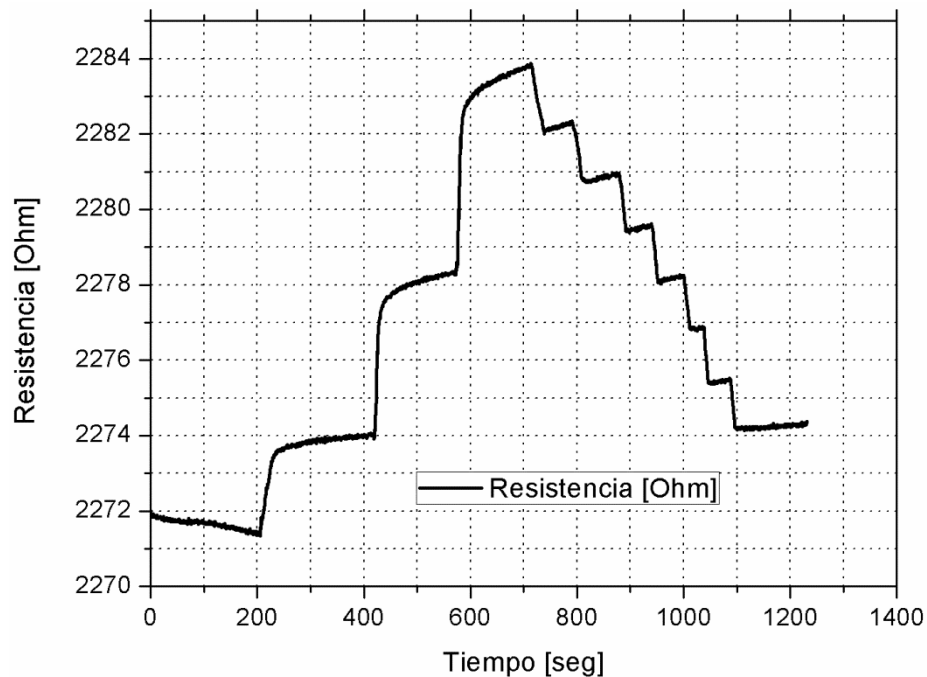


Figura 116. Gráfica de equivalencia entre presiones en mmH₂O e incrementos de resistencia.

Los resultados para la caracterización de la presión ejercida por las partículas magnéticas tienen dependencia a la curva de calibración del sensor. Para hacer un uso adecuado de ésta, es necesario hacer un ajuste utilizando los tres primeros saltos de ésta y obteniendo el valor promedio, que será el considerado para la equivalencia entre resistencia y presión en mmHg. Cabe mencionar que este proceso es una aproximación y debería hacerse una mejor caracterización de la curva de calibración.

La parte creciente de la figura 117 representa los saltos correspondientes a dejar caer sobre la columna una determinada cantidad de agua y medir la resistencia correspondiente con el multímetro. La parte decreciente de la misma figura 117 nos muestra el mismo resultado, pero dejando salir una cierta cantidad de agua. Considerando que la sección creciente de la gráfica de calibración marcada en la figura 117, se tiene que un salto de 38 mmH₂O al

dejar caer agua, se corresponde con una diferencia aproximada de resistencia de 4Ω . Esto nos lleva a suponer que 1Ω equivale aproximadamente a unos 10 mmH₂O. Teniendo en cuenta que 13.6 mmH₂O son 1 mmHg, se puede considerar que la equivalencia es $1 \Omega = 0.735 \text{ mmHg}$.

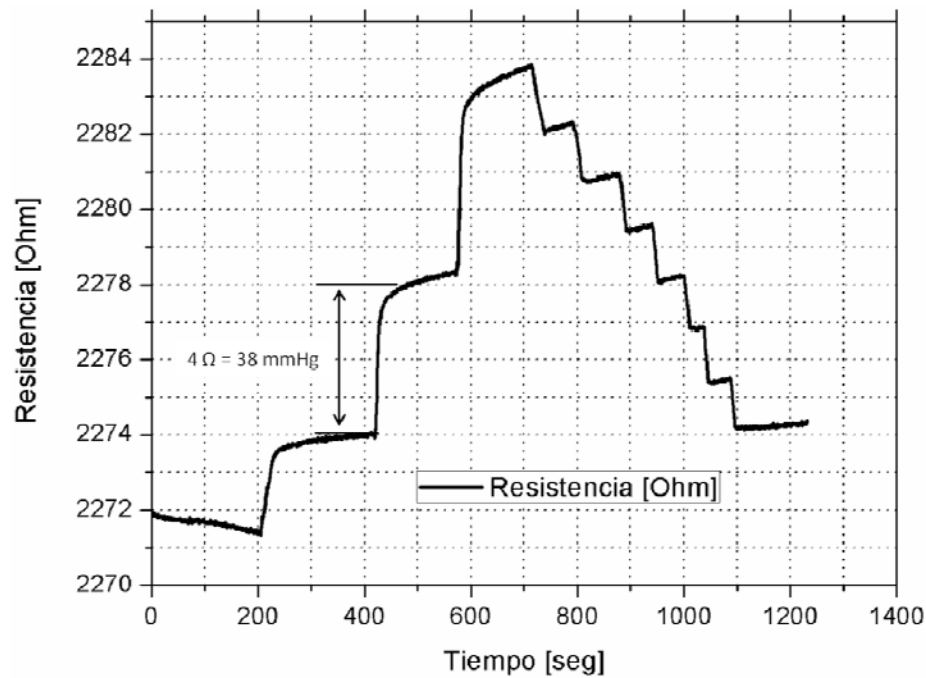


Figura 117. Gráfica de calibración analizada para encontrar la equivalencia entre mmH₂O y mmHg con respecto al cambio de resistencia del sensor.

6.7.7.2 Protocolo de experimentación

El protocolo seguido para la experimentación fue el mismo para los dos tipos de partículas consideradas en el estudio, aplicando un CME de 191 mT y con una concentración de 25 mg/ml; y se detalla a continuación:

1. Realizar la medición de presión ejercida por las partículas magnéticas esféricas sobre el sensor en respuesta a un CME de una muestra de 10 y 20 μl .

2. Realizar la medición de presión ejercida por las partículas magnéticas tipo copo sobre el sensor en respuesta a un CME de una muestra de 10 y 20 μl .
3. Todos los experimentos se realizaron variando el parámetro de distancia de dosificación: cuando la punta de la pipeta está prácticamente en contacto con el sensor, que se pudiera considerar como si estuviera sobre la retina (unos 2.5 mm); y a 5 mm de distancia (aproximadamente 7.5 mm).
4. Finalmente se analizaron los resultados y se compararon para ofrecer las conclusiones pertinentes.

Se tomó como guía para las medidas de calibración las siguientes consideraciones: en la subida de los valores de presión, se toma el valor más alto, y en la bajada, se toma el punto justo anterior a la subida.

6.7.7.3 Resultados experimentales

En la primera visita al ICMAB para la validación de la utilización de su sensor de presión para fines de caracterización de PMs, se procuró demostrar la viabilidad de poder medir la diferencia en resistencia al aplicar un CME. La figura 118 es la gráfica de las respuestas obtenidas en líquido y sólido con las PMs comerciales, se insertaron 10 y 20 μl y la concentración fue la de fábrica 200 mg/ml. En ella fue evidente la presencia de picos cada vez que las PMs estaban bajo la influencia del CME, con este hecho se validó que el sensor podría ser una buena herramienta para conocer la presión ejercida por las PMs sobre una superficie. Además, se observó que cuando las PMs se encuentran en

líquido disminuye la respuesta, esto dio sustento para pensar en que la morfología de las partículas representa un factor importante para ejercer una presión más eficiente.

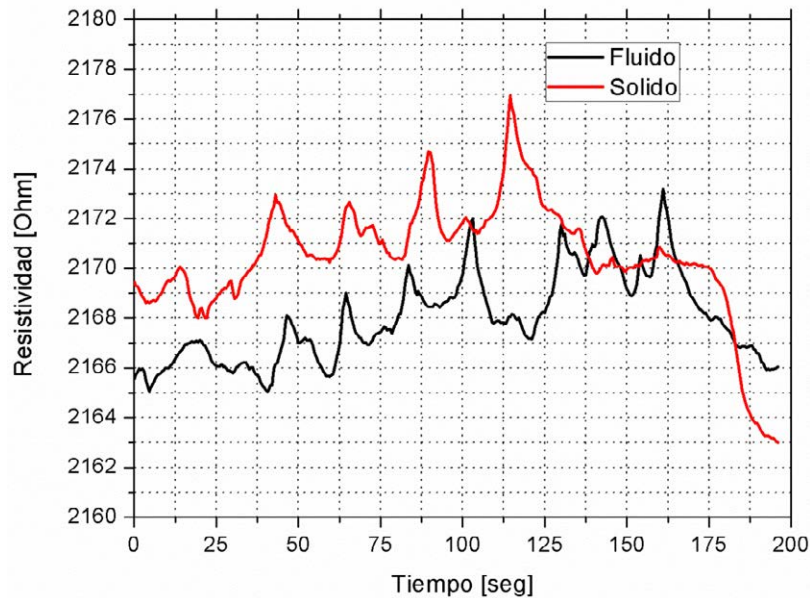


Figura 118. Respuestas en líquido y sólido de las PMs comerciales en respuesta a un CME aplicado.

En ese momento no se pretendía medir la presión ejercida por las PMs en la superficie del imán, por lo que el objetivo fue cumplido: validar la posibilidad de utilizar el sensor de presión desarrollado entre el ICMAB y el CNM de Barcelona para la caracterización de PMs en general, y particularmente para el proyecto NanoRetina.

Un año después, tras la solicitud de patente del dispositivo ocular (actualmente concedida y en vías de internacionalización), se propuso una segunda visita a las instalaciones del ICMAB, contando también con la presencia del grupo del CNM, para realizar una serie de experimentos y hacer una primera aproximación de la presión ejercida por dos tipos diferentes de

partículas: comerciales (esféricas) y planares (copos); y el protocolo propuesto fue el expuesto en el apartado 7.7.7.2.

La experimentación se inició con la inserción de 10 μ l de PMs comerciales para comprobar si efectivamente existía un cambio en la resistencia del sensor. Para tal fin, se colocaron las partículas con la pipeta de precisión en ausencia de CME, una vez colocadas en el interior del recinto experimental se movía la fuente magnética por la parte inferior del sensor de presión para obtener la gráfica de respuesta del sensor. La figura 119 muestra la respuesta del sensor en mmHg a la aplicación de un CME a una distancia mínima (0.055 mm), se observa que desde la incorporación de la fuente magnética da un salto aproximado de 2.5 mmHg para después caer; y así hasta por seis veces que se alternó la entrada y salida del CME. Además, al final de la gráfica se observa una relajación del sensor, la cual fue hecha porque desde la primera visita se había observado la extrema sensibilidad del sensor a la temperatura; con esta caída tan importante (aproximadamente 10 Ohm), que representa el cambio en la habitación de 1°C, sugiere la necesidad de aislamiento del sensor. Sin embargo esto no fue posible por la disposición del montaje experimental, por lo que al final de la experimentación se procedió a observar cuál era la influencia de la temperatura en la subida de la gráfica.

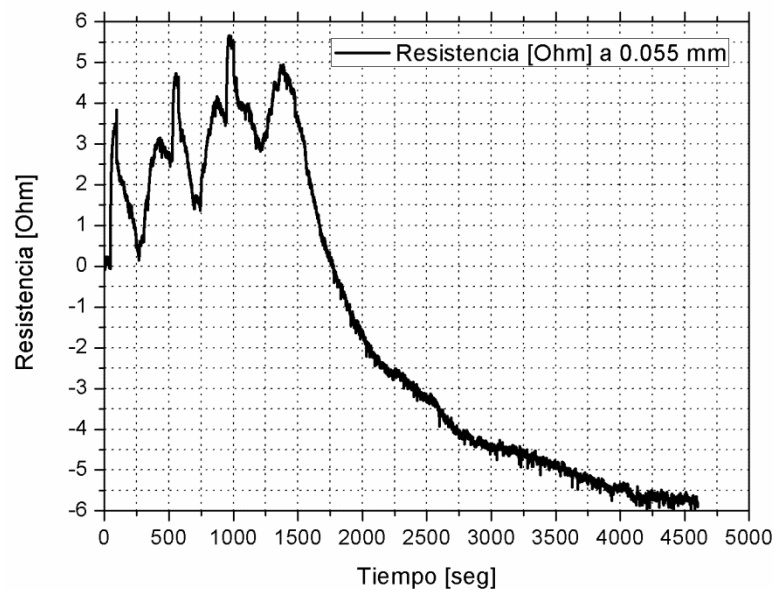


Figura 119. Grafica de la respuesta del sensor a la influencia de un CME sobre PMs comerciales a 0.055 mm.

El siguiente punto a comprobar fue que la respuesta del sensor fuese diferente al variar la distancia entre fuente magnética y PMs. Para esto se tomaron dos distancias: la mínima de 0.055 mm y la que representa la distancia entre esclerótica y retina que es aproximadamente de 2.5 mm. La figura 120 muestra una comparación entre la respuesta de las PMs comerciales a las distancias mencionadas anteriormente. En la gráfica se observa que la respuesta de las PMs comerciales al CME con 2.5 mm entre fuente y partículas es aproximadamente una quinta parte de la observada cuando la separación es de 0.055 mm, esto es, a la distancia mínima hay un cambio en presión de 2.5 mmHg y para 2.5 mm de separación la subida es aproximadamente de 0.5 mmHg. Puesto que la diferencia es sustancialmente importante se comprueba que el sensor de permite visualizar cambios en la presión ejercida por la fuerza magnética sobre las partículas considerando diferentes separaciones, incluyendo la existente entre esclerótica y retina.

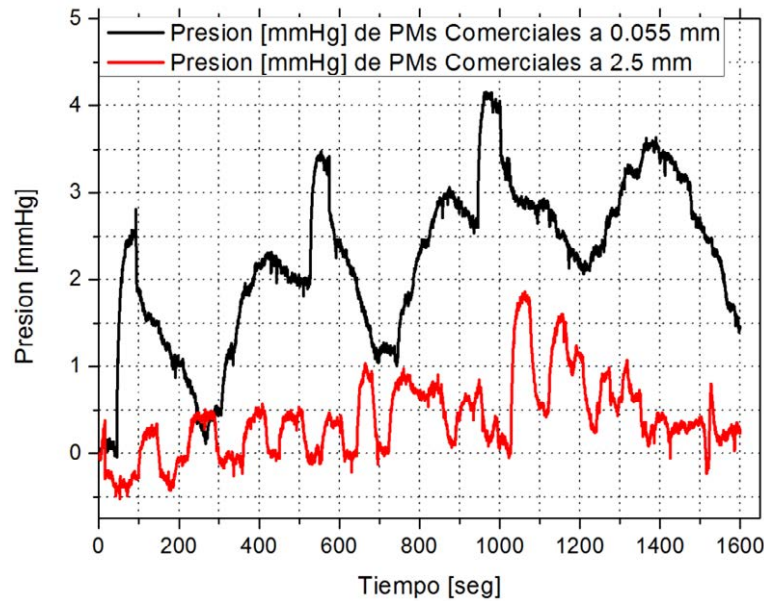


Figura 120. Comparación de la presión ejercida por PMs comerciales a dos distancias: en negro 0.055 mm y en rojo 2.5 mm.

Una vez comprobado que la variación en la distancia de separación entre la fuente magnética y las partículas depositadas en la cara activa del sensor se pueden diferenciar, a continuación se presentan las respuestas obtenidas para cada caso propuesto. Cabe mencionar que para obtener los valores finales de medida de presión se propuso considerar el valor medio entre las subidas experimentadas cuando la fuente magnética se colocaba por debajo del sensor. En las figuras 121 y 122 se presenta una comparación entre las respuestas de la presión medida en el sensor para las partículas esféricas y planares, con volumen de 10 μl y a dos distancias de separación: la mínima posible y a la existente entre esclerótica y retina (2.5 mm). En la primera de ellas las distancias mínimas son 0.055 y 0.039 mm; y se observa que la presión medida para las partículas esféricas es menor (1.85 mmHg) que para la misma cantidad de partículas planares (4.98 mmHg).

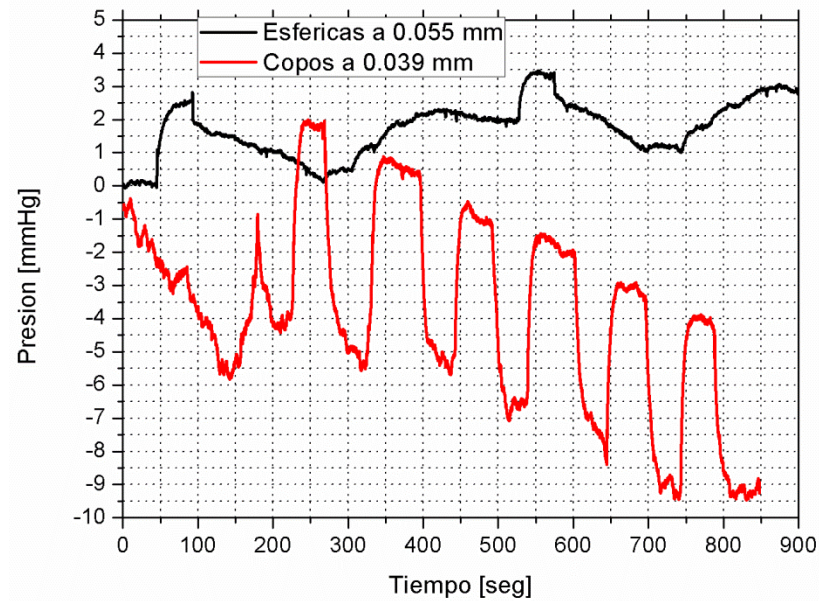


Figura 121. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 10 μl y la distancia mínima posible en el arreglo.

Para la segunda se ha calculado que las partículas esféricas ejercen 0.5 mmHg y las planares 1.31 mmHg. En ambas gráficas la respuesta de las partículas esféricas es menor que la de las planares, esto es consecuencia de la ineficiencia en la colocación de las partículas en la superficie activa, y comprueba la hipótesis hecha sobre la importancia de la morfología de las PMs dependiendo de la aplicación biomédica deseada. Cuando se acomodan las partículas esféricas, éstas se aglomeran dejando, por su propia forma, huecos entre ellas que a su vez permiten el paso de líquido; esto hace que se minimice el contacto de las microestructuras con la superficie activa de la fuente magnética. Por otro lado, las partículas planares se apilan sin dejar huecos entre ellas, logrando un contacto con la cara activa de la fuente magnética más eficiente; y en consecuencia ejercen una mayor presión sobre la zona de interacción magnética.

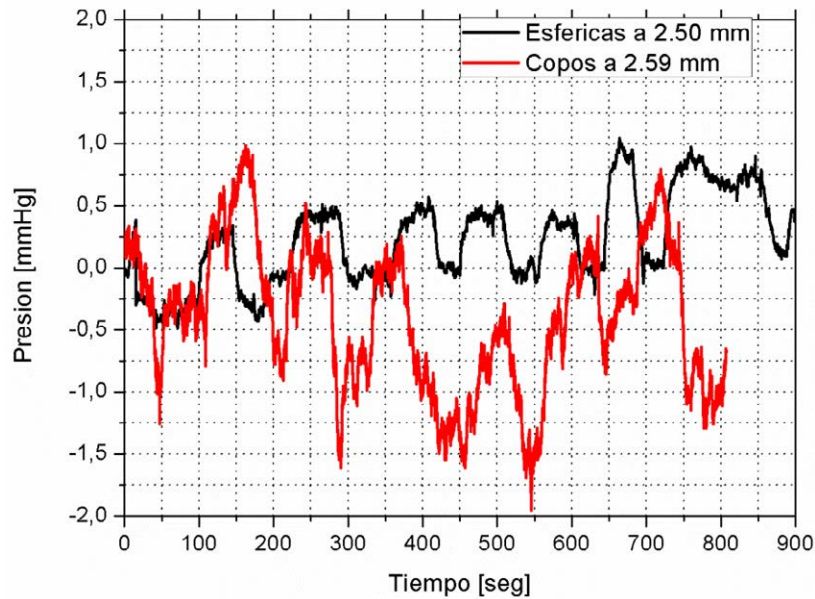


Figura 122. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 10 μl y la distancia que corresponde a la existente entre esclerótica y retina.

Las figuras 123, 124 y 125 presentan la comparación entre partículas esféricas y planares, en este caso a tres diferentes separaciones: distancia mínima posible, distancia equivalente a la existente entre esclerótica y retina, y separación donde los médicos liberan teóricamente las partículas durante la cirugía. En las dos primeras es evidente que ocurre el mismo fenómeno explicado con las dos anteriores gráficas sobre el acomodamiento de las partículas dependiendo de la morfología de las mismas. Sin embargo, en la tercera se observa que las partículas planares no superan a las esféricas en presión ejercida, esto se debe a que la carga magnética que tienen los copos es un orden de magnitud menor que las comerciales, por lo que prácticamente ya no tienen respuesta alguna. Las presiones medidas, respectivamente en las figuras, fueron: 1.85 y 4.40 mmHg, 0.48 y 1.01 mmHg, y 0.32 y 0.15 mmHg; esféricas y planares, respectivamente.

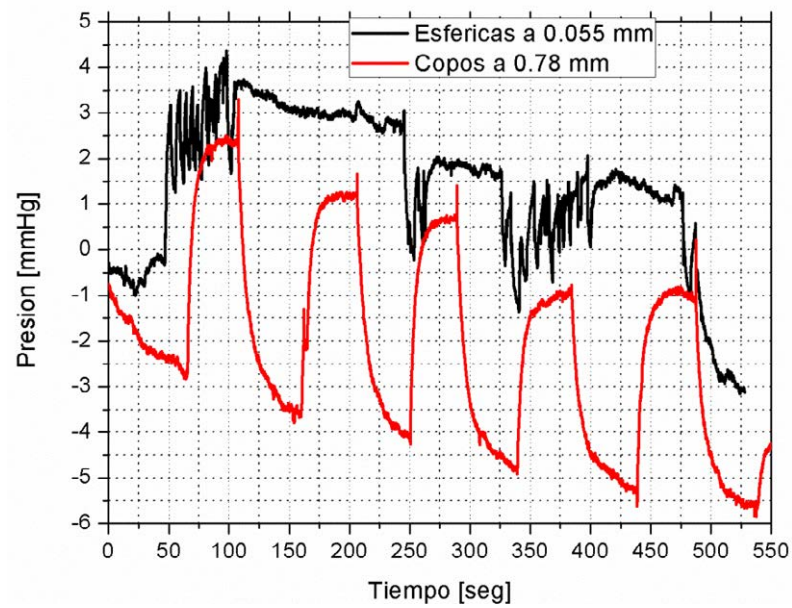


Figura 123. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 20 μl y la distancia mínima posible en el arreglo.

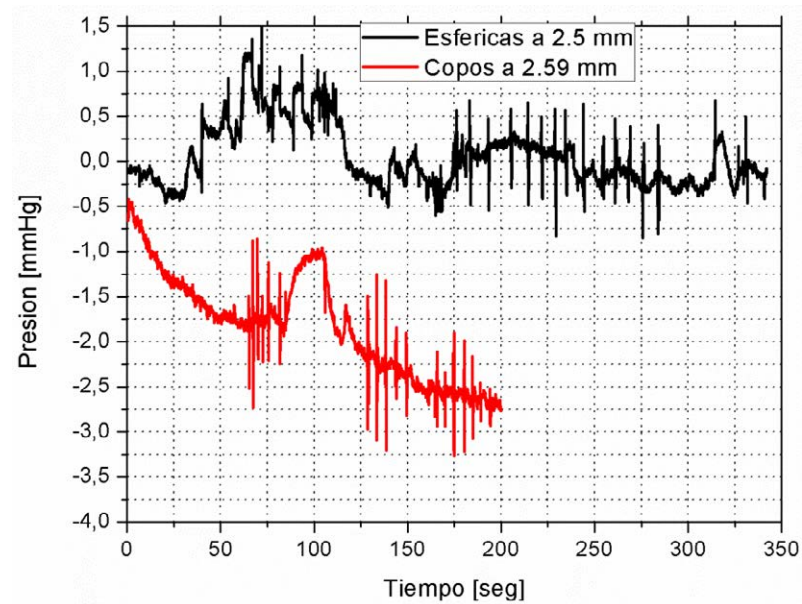


Figura 124. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 20 μl y la distancia que corresponde a la existente entre esclerótica y retina.

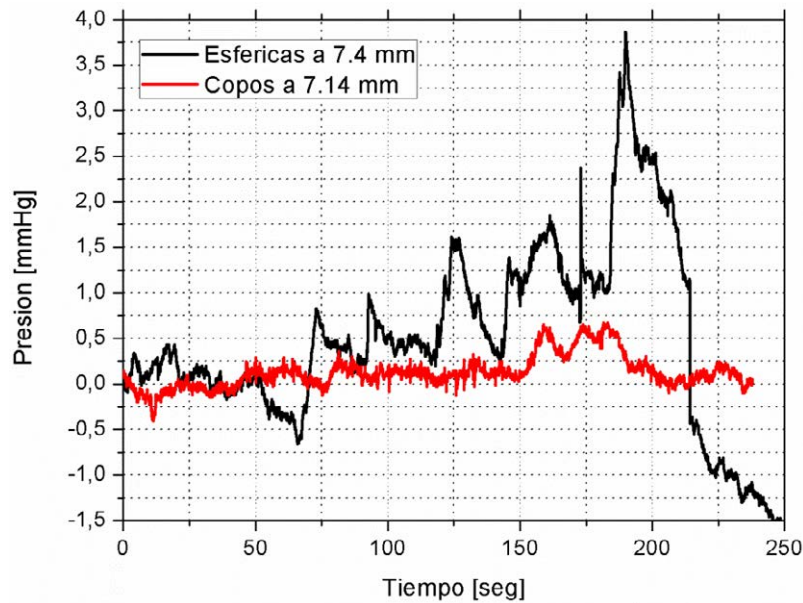


Figura 125. Gráfica comparativa entre partículas esféricas y planares considerando un volumen de 20 μ l y una distancia cercana a los 10 mm que es donde los médicos liberan las partículas.

En la etapa final de la experimentación con partículas planares se aprovechó para observar la dependencia del sensor con la temperatura, ya que esto es ruido añadido durante las medidas de la presión. Para tal fin, se aprovechó la experimentación con partículas planares para hacer lo que se muestra en la figura 126. En la sección izquierda se observa el cambio en la fuerza experimentada por las PMs en respuesta a la aplicación de una fuente magnética, y en la sección derecha se observa la respuesta de las mismas partículas sin fuente magnética. El valor medio de la presión sensada sin la fuente magnética es de 2.00 mmHg, que corresponde al 45% de 4.40 mmHg, que es el valor medio de la respuesta con fuente magnética.

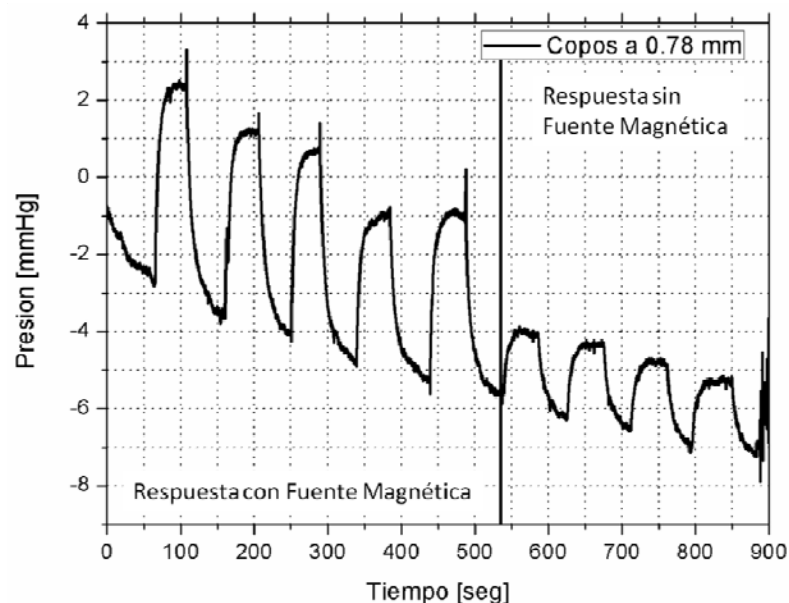


Figura 126. Gráfica de la respuesta en presión experimentada por 20 μ l de copos a una distancia de 0.078 mm. En la sección izquierda la respuesta a la aplicación de una fuente magnética, y en la sección derecha la respuesta de las mismas partículas sin fuente magnética.

Para corroborar lo anterior, se hizo lo mismo para la distancia de 2.5 mm y se muestra en la figura 127. En ella se observa en la sección izquierda la respuesta con fuente magnética y en la sección derecha sin fuente magnética. Se observa que sin la fuente magnética el cambio es de 0.5 mmHg, que corresponde al 50% de 1.01 mmHg, que es el valor medio de la respuesta obtenida con fuente magnética.

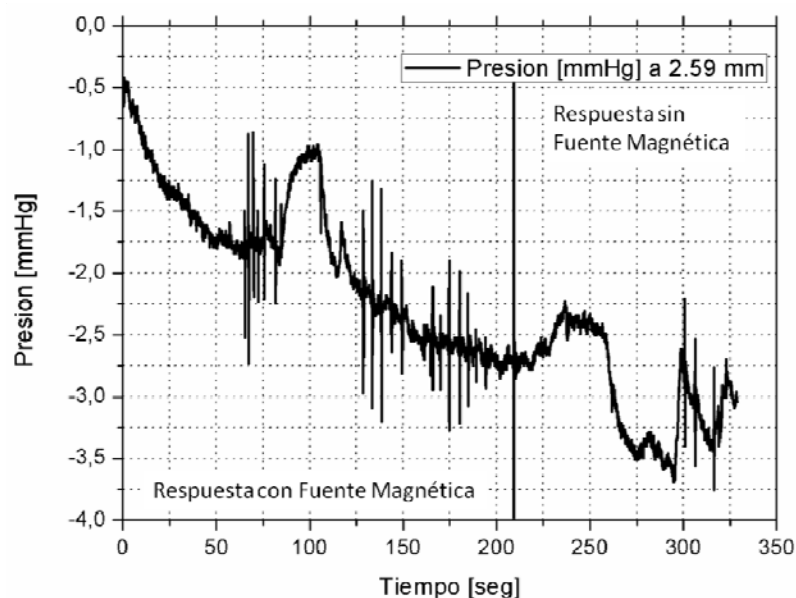


Figura 127. Gráfica de la respuesta en presión experimentada por 20 μ l de copos a una distancia de 2.59 mm. En la sección izquierda la respuesta a la aplicación de una fuente magnética, y en la sección derecha la respuesta de las mismas partículas sin fuente magnética.

De las dos gráficas mostradas arriba se puede intuir que la temperatura aporta, en valor medio, el 47.5% del valor obtenido para la presión ejercida por las PMs, independientemente de la morfología que tengan. Dicho esto, sería lógico que en una primera aproximación se le redujera a los valores obtenidos de presión un 47.5%, de esta forma nos estaríamos acercando más al valor real de la presión ejercida por las PMs. La tabla XIX muestra los valores aproximados calculados para los dos tipos de morfologías probadas y considerando además el cambio en la separación entre sensor y fuente magnética. Para fines comparativos entre los dos tipos de partículas se presentan los resultados obtenidos para 20 μ l, ya que de este volumen hay más información.

Tabla XIX. Valores aproximados calculados para los dos tipos de morfologías usadas en el estudio y considerando el cambio en la separación entre sensor y fuente magnética.

Volumen [μ l]	Tipo de Partícula	Separación [mm]	Presión [mmHg]
20	Comerciales	0.055	0.97
		2.50	0.25
		7.40	0.16
	Copos	0.078	2,31
		2.59	0,53
		7.14	0,07

Graficando los datos presentados en la tabla XIX, se obtiene una gráfica evolutiva de la presión ejercida por las partículas magnéticas sobre la superficie activa de la fuente magnética con respecto de la separación entre la fuente magnética y el sensor. La figura 128 muestra dicha evolución a manera de comparación entre las partículas comerciales y los copos.

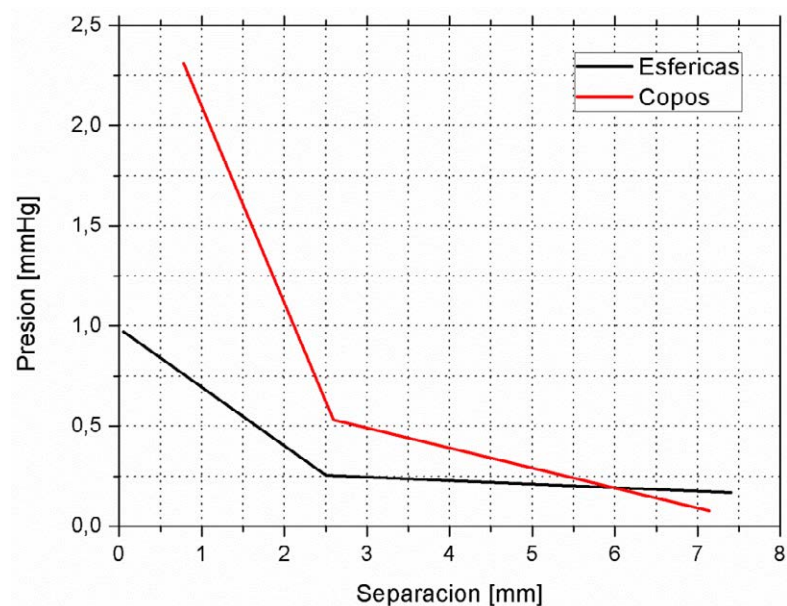


Figura 128. Comparación entre la evolución de la presión ejercida por las partículas esféricas y planares a diferentes separaciones entre la fuente magnética y el sensor.

Aunado a lo anterior, en la figura 129 se muestra la misma evolución mostrada en la figura anterior pero por separado para mostrar el ajuste de la curva: en a) la evolución de las partículas comerciales, y en b) la de las

partículas tipo copo. El ajuste se ha aproximado a una ecuación del tipo $y = e^{-a+bx+cx^2}$, que permite aproximar los pocos puntos que hay a una evolución exponencial decreciente.

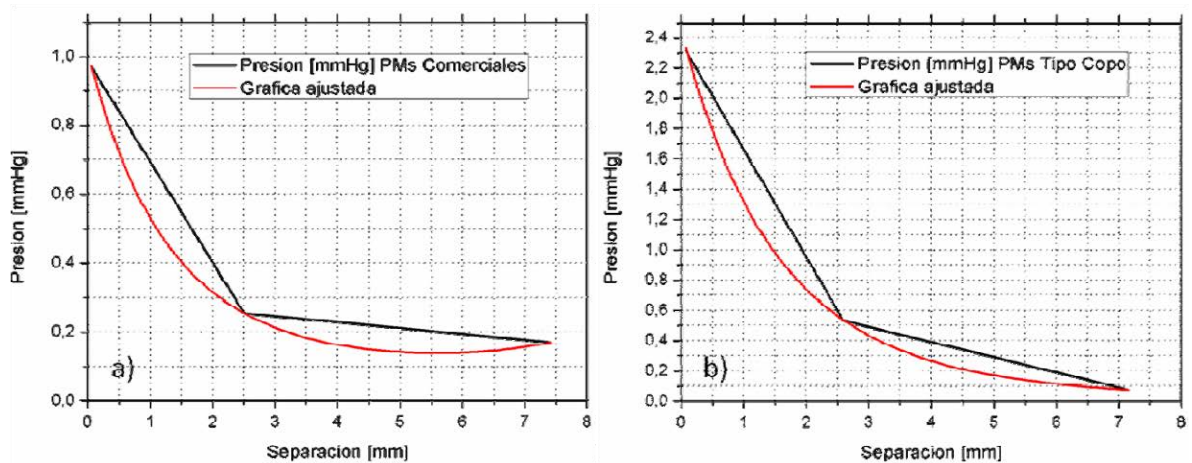


Figura 129. Evolución experimentada por las PMs en función de la distancia de separación entre la fuente magnética y el sensor: en a) las partículas comerciales, y en b) las partículas tipo copo. Además se muestra el ajuste de la gráfica a una ecuación exponencial decreciente.

Tanto las gráficas de los datos como el ajuste de las mismas permite corroborar que lo expuesto en el capítulo de caracterización dinámica tiene concordancia y puede ayudar con la visualización de posibles diseños en aplicaciones biomédicas; ya que se observa que la presión cae de manera exponencial cuando la distancia de separación es mayor y conforme la inducción magnética disminuye debida a la misma separación. Esto fue similar en el análisis hecho en la sección mencionada.

Por otro lado, se ha demostrado que la morfología de las PMs tiene especial importancia a la hora de proponer soluciones viables en la medicina, ya que si se hubieran utilizado las partículas esféricas para la corrección del DR, la presión ejercida por éstas hubiera resultado ineficiente e inclusive podría haberse dado el caso de un redespndimiento debido al flujo de líquido entre

las partículas. Lo anterior se demostró al observar mayores presiones sobre la superficie activa de la fuente magnética por las partículas tipo copo, las cuales se apilan unas sobre otras sin dejar huecos para el flujo de líquido, ya sea vítreo o suero fisiológico. La figura 130 muestra tres fotografías que ilustran: en a) la cara donde está colocado el explante ocular magnético, en b) la cara donde se encuentra el ferrofluido de partículas tipo copo a observar, y en c) la colocación de la muestra en el microscopio.

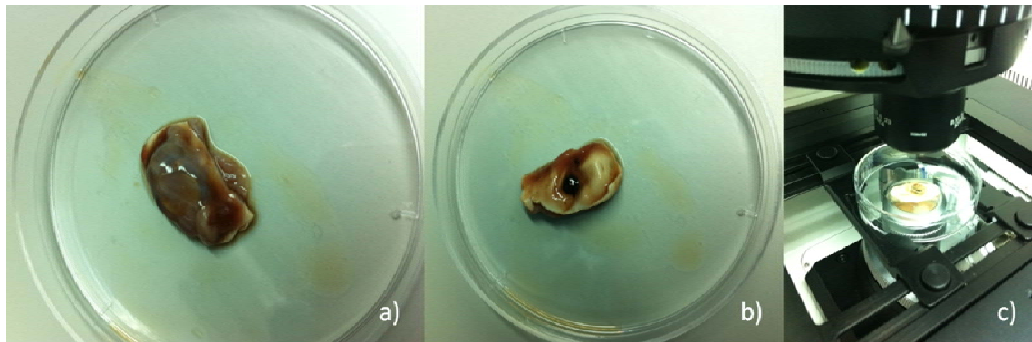


Figura 130. Fotografías que ilustran: en a) la cara donde está colocado el explante ocular magnético, en b) la cara donde se encuentra el ferrofluido de partículas tipo copo a observar, y en c) la colocación de la muestra en el microscopio.

Además, la figura 131 son tres fotografías hechas al microscopio que muestran: en a) la aglomeración completa de partículas encima de la retina, en b) un acercamiento de la misma aglomeración pero en contraste blanco/negro, y en c) se ven las partículas apiladas y se identifican los contornos de éstas, al menos de las que están más superficialmente.

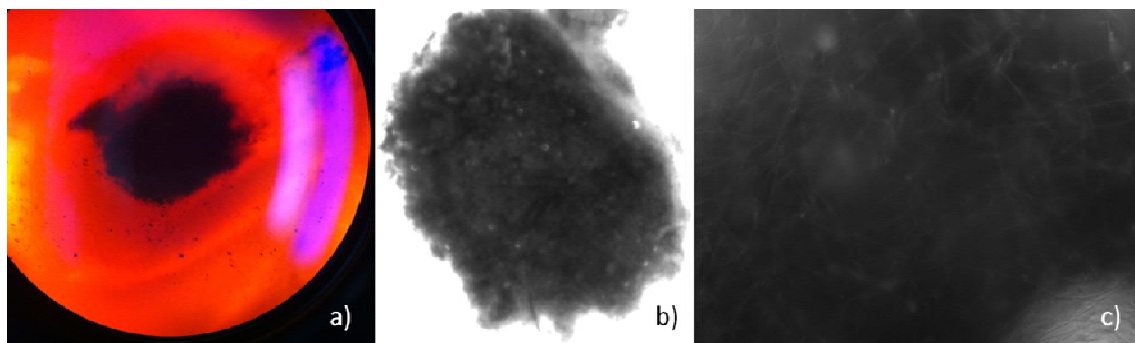


Figura 131. Fotografías hechas al microscopio que muestran: en a) la aglomeración completa de partículas encima de la retina, en b) un acercamiento de la misma aglomeración pero en contraste blanco/negro, y en c) se ven las partículas apiladas y se identifican los contornos de éstas.

Finalmente se presenta la tabla XX, en ella se muestran los datos de presión aproximados obtenidos para 10 y 20 μl , pero considerando únicamente dos distancias: la mínima posible y la existente entre esclerótica y retina. Se puede observar que el volumen introducido también hace aumentar la presión ejercida; sin embargo, no es directamente proporcional sino que aumenta gradualmente. Esto se puede evidenciar de comparar las distancias de 2.5 y 2.59; que aunque no son similares se puede identificar que el aumento de la segunda con respecto de la primera no es al doble como lo supone el aumento en el volumen.

Tabla XX. Datos correspondientes a la presión ejercida por las partículas planares sobre la cara activa de la fuente magnética en dos volúmenes: 10 y 20 μl , así como dos separaciones: mínima y 2.5 mm.

Volumen [μl]	Tipo de Partícula	Separación [mm]	Presión [mmHg]
10	Copos	0.039	2.61
		2.50	0.39
20		0.78	2,31139
		2.59	0.53127

Haciendo un balance general, se puede decir que como una aproximación se puede aceptar lo hecho para conocer la presión ejercida por las PMs

en respuesta a un CME. Sin embargo, se debería buscar un sensor que satisfaga todas las necesidades buscadas para la caracterización de PMs, ya que la alta dependencia a la temperatura hace que la información obtenida sea aproximada. Por otro lado, la experimentación ha servido, entre otras cosas, para comprobar la importancia de la morfología de las partículas magnéticas, que fueron hechas a diseño para la corrección del desprendimiento de retina; por lo que deberá tenerse en cuenta para futuras aplicaciones o usos de este tipo de partículas planares. Así mismo, se ha podido identificar que la buena caracterización de la presión permitirá adecuar la dosis ideal para obtener un taponamiento afectivo en la corrección del desprendimiento de retina.

CAPÍTULO 7

7. Conclusiones y Trabajo Futuro

En concordancia con el planteamiento del problema, los objetivos propuestos y las metas establecidas, la finalidad de este apartado es presentar las conclusiones a las cuales se ha llegado después de haber realizado el análisis correspondiente de los resultados presentados en el presente trabajo de tesis.

7.1 Conclusiones Generales

De acuerdo con lo presentado, existen grandes posibilidades para que las PMs magnéticas puedan servir de vehículo para la entrega de fármacos o sean útiles como herramientas quirúrgicas. Para lograrlo, debe alcanzarse un nivel alto de caracterización en el diseño y fabricación de las PMs, tomando en cuenta tanto el material activo como el recubrimiento para la biofuncionalización. Además, el entendimiento correcto de los fenómenos físicos es indispensable, así como contar con equipamiento especializado para

ayudarse en dicha tarea como pueden ser: el AGFM, el relajómetro, equipos de hipertermia o equipo de caracterización dinámica.

La importancia de lo mencionado radica en que, dependiendo de la aplicación, las características de la PM deberán cumplir con ciertos requisitos mínimos. Las propiedades más importantes en la caracterización de las PMs están relacionadas con el material de fabricación y su respuesta a los campos magnéticos estáticos y/o alternos. La respuesta del material a los campos magnéticos es fundamental para determinar la composición que se debe emplear en el diseño y fabricación de las PMs para las aplicaciones potenciales.

Por otro lado, el tamaño de la partícula magnética determina su funcionamiento en dependencia de la aplicación biomédica, en el caso de agentes de contraste e hipertermia, la respuesta es inversamente proporcional al tamaño de la misma, debido a que a menor tamaño el comportamiento de las PMs a los campos aplicados es mejor. Caso contrario, en el guiado y focalización, a mayor tamaño, mejor es la respuesta a los campos externos en concordancia con los objetivos buscados. Aunado a lo anterior, la caracterización también tiene relevancia para la discriminación o validación de modelos teóricos que explican el comportamiento de las PMs ante la influencia de campos magnéticos estáticos y/o alternos. Además, permite entender los mecanismos involucrados en las aplicaciones mencionadas y encontrar los parámetros óptimos que mejor satisfagan los objetivos perseguidos, como el caso del calentamiento de las células en la hipertermia, o una mejor focalización para corrección de la retina o la liberación de fármacos.

Se concluye de manera general que el empleo de la micro y nanotecnología en el área de la biomedicina ha impulsado diversas líneas de investigación para el tratamiento y diagnóstico de enfermedades. Entre ellas están: la liberación de fármacos, hipertermia, agentes de contraste para imágenes de RM, guiado, focalización, métodos de fabricación, etc. El hecho de buscar soluciones variadas da pauta a destacar la importancia de una correcta caracterización así como de la determinación de la toxicidad de las PMs, para lo cual la biofuncionalización juega un papel importante cuando se diseñan y fabrican las partículas magnéticas. Además se vislumbra que el uso de estructuras híbridas entre micro y nanoescalas puede ser un camino viable para la aportación de soluciones innovadoras y eficaces para el tratamiento y diagnóstico de enfermedades, así como en la ayuda quirúrgica.

7.1 Conclusiones de Guiado y Focalización de PMs

En conclusión, se han identificado dos fenómenos magnéticos no convencionales de auto-organización y aglomeración de las PMs en respuesta a un CME focalizado. Ambos fenómenos bien caracterizados se puede aprovechar para dar soluciones innovadoras a problemáticas biomédicas como: filtros magnéticos de precisión para separación celular haciendo uso de geometrías variadas para focalizar el CME, que como se ha mencionado, permite alcanzar una discriminación en diámetro del orden de micras. Por otro lado, la aglomeración, que también es una consecuencia de la auto-organización de las PMs, puede ser ventajosa cuando se desea colocarlas en lugares confinados del

cuerpo humano como el ojo o en puntos articulares donde se facilite la colocación de prótesis.

Además, se han identificado variables importantes a considerar cuando se realice una caracterización dinámica de PMs además del CME, que son: 1) el material de fabricación de las PMs así como su porcentaje en volumen, 2) el diámetro de las PMs, 3) el medio viscoso donde se introducen las PMs, y 4) el diseño y fabricación de geometrías auxiliares para la focalización de las PMs. El primer punto está relacionado a la susceptibilidad magnética del material, que conforme sea mayor la respuesta al CME será mejor, y por tanto su manipulación. La segunda variable se ha identificado como prioritaria ya que contiene una dualidad interesante a resaltar; si el diámetro aumenta entonces las PMs experimentan un aumento en la fuerza de arrastre, pero si el diámetro es pequeño entonces se ha observado que las PMs tienden a difundirse entre las estructuras moleculares más fácilmente; por tanto se debe encontrar el punto de equilibrio entre las dos consideraciones a la hora de diseñar y fabricar tanto PMs como geometrías para focalizar el CME. Con respecto a la viscosidad, ésta varía de manera inversa con el movimiento de las PMs por lo que mientras más controlada se mantenga las soluciones propuestas tendrán un índice menor o mayor de éxito, es decir, si se desean aportar soluciones a problemas médicos se deberá favorecer la experimentación con medios que tengan la mayor similitud posible con el sistema, órgano o biofluido del cuerpo humano que sea objetivo. El cuarto punto está relacionado principalmente al diseño de sistemas magnéticos capaces de ofrecer ventajas sobre las soluciones actuales

a problemas médicos, biomédicos y/o biológicos. Se debe tener presente tanto las necesidades de los interesados en el sistema como las posibilidades tecnológicas de lograr la aplicación.

Por otro lado, se ha identificado que la velocidad de inserción de las PMs en el medio controlado es la principal responsable de la aparición del fenómeno de auto-organización en la primera parte del trayecto que recorren, y además está íntimamente relacionado con los fenómenos que pueden aparecer cuando se utilicen las PMs en ensayos in vivo al ser insertadas en la zona de interés, ya que no se puede conocer la fuerza que aplica el médico sobre la jeringa o dispositivo de dosificación.

Finalmente, es evidente la necesidad de trabajar en una mejor aproximación matemática de los fenómenos presentados, así como en la validación de las posibilidades expuesta de diseño y fabricación de dispositivos para filtrado celular con una mayor precisión, o la utilización de los fenómenos mencionados para solucionar problemas médicos en espacios confinados de cuerpo humano.

7.1.1 Sobre Guiado de PMs

Para alcanzar los objetivos planteados con respecto a las posibilidades de manipular las PMs, en esta tesis doctoral se ha insistido en que deben coexistir el buen entendimiento de la teoría y el diseño de la plataforma de caracterización dinámica. En este tema se concluye lo siguiente:

- Se han estudiado los fenómenos magnéticos asociados al movimiento de partículas magnéticas, permitiendo identificar

aquellas variables que tienen más influencia en su movimiento. En primera instancia está la inducción magnética, la cual en la formulación matemática aporta su valor al cuadrado, por tanto mientras más se acerquen las PMs a la fuente de campo magnético éstas experimentarán una mayor atracción. Lo anterior está ligado directamente a la susceptibilidad del material con el que se fabrican las PMs que es responsable, junto con el volumen de material, de la interacción magnética. Todas ellas tienen relación directamente proporcional con la velocidad que pudieran alcanzar las PMs debido al CME. De igual manera, se han identificado dos variables capaces de frenar el movimiento: viscosidad del medio y el tamaño. Ambos, actúan inversamente proporcional al movimiento por lo que no solamente frenarán su desplazamiento, sino que conforme aumenten, tienen mayor influencia en su difusión por el medio. En el caso de la viscosidad si ésta es muy elevada presentará una estructura molecular más sólida, dejando libres pocos espacios para que las PMs se muevan libremente. Por otro lado, el tamaño, mientras mayor sea e independientemente de la viscosidad del medio, ofrecerá mayor resistencia al paso entre los enlaces moleculares, ya que si es mayor que las moléculas que componen el medio, las PMs tenderán a difundirse entre capas estructurales. Por tanto, la inducción magnética generada por la fuente debe ser

suficiente para romper con las variables que impiden el desplazamiento de las PMs.

- Lo anterior ha permitido visualizar que el uso de PMs para la disposición de fármacos, generación de hipertermia, agentes de contraste para imagenología, guiado o focalización, requiere un estudio a conciencia del medio que se desee utilizar como transporte. Por ejemplo, si se considerara la sangre, hay que tener presente que entre los elementos formes, los leucocitos pueden llegar a tener diámetros de hasta 25 μm , que son aproximadamente entre 100 y 2500 veces más grandes que las nanopartículas que se desean incorporar, o en el caso de los eritrocitos suelen ser entre 600 y 800 veces más grandes; por lo que tener en cuenta las distintas propiedades de la sangre representa un factor importante. Por lo tanto el uso de soluciones o coloides que simulen los fluidos fisiológicos del cuerpo humano resulta de gran relevancia para trasladar los trabajos de experimentación in vitro a in vivo. Para esto sería deseable disponer de un coloide lo más similar posible a la sangre humana, considerando características como morfología y tamaño de los elementos que la componen, composición porcentual y densidad en peso de los mismos, características cinéticas, mecánicas, electrolíticas, magnéticas, etc.; como el concebido y patentado en el seno del LBN, ***ES 2 343 778 B2***.

- La conclusión anterior tiene repercusión directa en la importancia evidente de diseñar y fabricar fantasmas para la experimentación in vitro, lo cual permite evaluar los dispositivos biomédicos y predecir su comportamiento in vivo con un mínimo error añadido.
- El diseño de la fuente de campo magnético también tiene repercusiones importantes en la manipulación de las PMs. Puesto que la inducción magnética está comprometida con la forma y tamaño del imán, se ha identificado como un factor importante a considerar dependiendo de la aplicación biomédica que se le desee dar. Además, la experimentación realizada evidenció que también puede ser una opción muy viable la utilización de diversas geometrías para la manipulación de las líneas de campo.
- El recinto de experimentación ha quedado listo para la optimización del mismo. Se ha pasado de insertar las PMs con pipeta manual a una automática, lo cual en un futuro permitirá, con un buen diseño, poder caracterizar más eficientemente y rápido el movimiento de partículas magnéticas. Además se han hecho las primeras aproximaciones de un software basado en video para observar, caracterizar y predecir su movimiento.
- Los logros alcanzados permiten intuir que la utilización de otras técnicas pueden resultar exitosas para la manipulación de las partículas magnéticas, como puede ser el caso específico de la utilización de ondas estacionarias.

7.1.2 Sobre focalización de PMs

La focalización tiene que ver con la aglomeración de las partículas magnéticas, y aunque este comportamiento cuando se inició el presente proyecto estaba muy castigado por las aplicaciones que en ese momento se visualizaban, se ha podido identificar que dicho fenómeno no debe dejarse de considerar. Las conclusiones más sobresalientes sobre este tema son las que siguen:

- Las simulaciones han permitido concluir que la utilización de diversas geometrías ayuda con el control fino de las PMs. En el caso concreto de la utilización de un cono como extensión del imán, se han logrado concentrar las líneas de campo en la parte superior del cono, con un coste claro de inducción magnética, pero que es controlable a la hora de diseñar. Esto quiere decir que manipulando las medidas geométricas, cuya consecuencia directa es la cantidad volumétrica del material; así como los materiales usados para dichas geometrías, es posible colocar las PMs en el lugar de interés. Lo anterior también ha sido constatado en experimentación por lo que su repetitividad puede lograrse en un 90% de las veces. Esto se concluyó al haberse realizado 12 experimentos in vitro y 30 in vivo con la técnica de focalización.
- Se ha identificado un comportamiento particular de auto-organización de las partículas magnéticas que no ha sido explorado ni sugerido en publicaciones, por lo que es una de las

contribuciones al estado del arte. Se encontró que no tiene memoria y que la organización de las PMs es aleatoria. El fenómeno se atribuye a que las PMs actúan como dipolos magnéticos, magnetizándose y formando estructuras compactas, sin embargo cuando se les quita la fuente magnética, puesto que contienen individualmente una susceptibilidad mínima, su desmagnetización es rápida; situación idónea si al material no puede quedarse en el lugar depositado por periodos largos.

- Por otro lado, el entendimiento de este fenómeno de auto-organización ha derivado en el diseño y fabricación de un dispositivo ocular, que no tiene su único uso en el desprendimiento de retina, es decir, que su versatilidad es tan grande como imaginación y conocimiento de materiales se tengan.
- Así mismo, su entendimiento ha permitido proponer su utilización en espacios anatómicos donde no haya una vascularización importante y se pueda confinar el material propuesto para su manipulación externa.
- Finalmente, puesto que el fenómeno de auto-organización sugiere una manipulación más precisa de las partículas magnéticas, se han identificado diversos nichos de utilización como pueden ser: filtros magnéticos de precisión, separadores biológicos magnéticos, manipuladores biológicos, por mencionar algunos.

7.2 Conclusiones de la Aplicación Biomédica

7.2.1 Sobre el dispositivo ocular

Los elementos del dispositivo ocular han sido diseñados en el seno del LBN, y en el caso de los explantes oculares también fabricados. Esto ha significado una contribución importante al proyecto NanoRetina, el cual ha estado liderado por el grupo. Las conclusiones más sobresalientes se citan a continuación:

- Se han sentado las bases para el diseño de partículas no convencionales, que reúnan las características magnéticas esenciales para su control, biocompatibilidad y funcionalidad biomédica.
- Se han identificado 5 factores importantes en el diseño de partículas: 1) aplicación potencial, 2) el material magnético, 3) el material de biocompatibilidad, 4) tamaño, y 5) forma. El primero es el punto de partida, mientras en otros laboratorios se diseñan y fabrican partículas a las cuales no se les tiene claro la aplicación potencial, en el LBN se ha optado por inicialmente identificar la aplicación biomédica, ya que de ella dependerán los demás parámetros. Una vez potenciada la aplicación, hay que entender y conocer las propiedades magnéticas del material para posteriormente poder evaluar su funcionalidad. Parte crucial en el diseño es la utilización de materiales biocompatibles, esto va de la mano con las intenciones de introducirlas en el cuerpo humano. Sin

embargo, dependiendo del lugar donde sean introducidas la biocompatibilidad será más o menos crítica. Aunado a lo anterior está el punto cuatro, el cual tiene repercusión directa en la posibilidad de controlar su interacción con funciones elementales del cuerpo humano, como es el drenaje de elementos ajenos. Si no se tienen en consideración estos procesos elementales se puede incurrir en intoxicación a través del flujo sanguíneo, por ejemplo. Por último, el punto cinco pudiera afectar también el punto anterior pero de menor manera, donde sí tiene importancia es en la funcionalidad deseada, por ejemplo: para ejercer una presión sobre una superficie no es lo mismo tener una partícula plana que una esférica.

- Se ha desarrollado una metodología de evaluación de las propiedades magnéticas de las partículas diseñadas, útil para la discriminación o aceptación del producto fabricado. Esto permite predecir su comportamiento cuando sean utilizadas.
- Se ha obtenido una partícula no convencional tipo Copo en colaboración con el Departamento de Física Aplicada de la UAM; cuyos procesos de obtención han quedado protegidos por la patente **ES2370014B2**. Empleando la metodología del punto anterior se han obtenido parámetros importantes en el proceso de fabricación que permiten su optimización, ya que han dejado ver las tendencias que tienen al variar algún parámetro.

- Además, puesto que la partícula está pensada para cubrir espacios mayores de manera más eficiente, así como que ejerciera una presión homogénea sobre la retina, y puesto que dicha presión no se puede medir in vivo; ha surgido la necesidad de hacer una caracterización de la presión ejercida por las PMs sobre una superficie debida al campo magnético estático aplicado. Esto tiene importancia ya que si la fuerza magnética aplicada sobrepasa un cierto límite podría hacer que los copos atravesasen retina, coroides e incluso pasasen a esclerótica.
- Se ha desarrollado una metodología para el diseño y evaluación de la funcionalidad de imanes permanente para su utilización como contraparte de un sistema magnético. Ésta tiene repercusión directa sobre el control y manipulación de las partículas diseñadas y fabricadas.
- Lo anterior, se ha aprovechado para el diseño y fabricación de un explante ocular magnético, elemento importante en el sistema ocular desarrollado para la corrección del desprendimiento de retina. Los procesos de obtención y detalles de diseño están protegidos por la patente **ES2370014B2**.

7.2.2 Sobre la biocompatibilidad del dispositivo ocular

La biocompatibilidad en los productos sanitarios, especialmente en aquellos que son implantables, debe alcanzar niveles altos para que puedan ser en primera instancia ensayados en humanos y posteriormente utilizados en las

cirugías rutinarias de los médicos oftalmólogos. Este apartado trata las conclusiones más relevantes acerca del tema:

- Se ha cumplido que los materiales seleccionados para la fabricación de las partículas, tras el ensayo con animales, resultaran en el primer ensayo con toxicidad leve-moderada, y los siguientes tres con una toxicidad difusa.
- En el caso del primer ensayo se utilizaron partículas comerciales de las cuales no se tiene un control detallado porque no contienen ningún tipo de diseño especial. Sin embargo la toxicidad encontrada se atribuye principalmente a los restos que caen directamente de la jeringa cuando entra y sale ésta, que es consecuencia de las propias fuerzas hidrostáticas que actúan en ese preciso momento sobre la punta de la jeringa. De este ensayo se destaca haber identificado el por qué de los resultados, y mejorando la metodología de inserción y extracción de la jeringa se minimiza el riesgo asociado a tal evento.
- Por otro lado, en los otros tres siguientes ensayos se concluyó una toxicidad difusa porque no se ha encontrado siderosis o necrosis asociada a las células retinianas en la zona de interacción, cerca de ella o en cualquier otro lado del globo ocular. Sin embargo las evaluaciones enzimáticas no han quedado completamente claras a la vista de los especialistas, y aunque tales evaluaciones no están orientadas a la toxicidad, se ha visto que del ojo control al ojo

experimental existen ciertas tendencias o cambios radicales entre ellos que pudiesen ser parte de una toxicidad oculta.

- Se ha hecho también evaluación in vitro de citotoxicidad para apoyar la evaluación de la toxicidad in vivo pensando en la mayoría de las posibilidades para trasladar la tecnología eficientemente. Los resultados han permitido corroborar que los materiales seleccionados para la fabricación de las partículas y los explantes no son tóxicos por sí mismo, se deben conjugar una serie de eventos para que éstas generen algún tipo de interacción anatómica o fisiológica.
- Se han desarrollado procesos novedosos para recubrir los explantes oculares magnéticos protegidos por la solicitud de patente **ES2370014B2** y que han permitido obtener casi nula interacción con el tejido vivo. De todos los conejos ensayados solo el 6,67% presentaron irritación leve sobre la esclerótica.
- Así mismo, estos procesos han permitido darle funcionalidad tanto a los copos como a los explantes oculares, ya que se les pueden adjuntar moléculas o algún conjugado que el médico pudiera necesitar a futuro, por ejemplo: fármacos, líneas biológicas, etc.
- Se ha encontrado que la utilización de ferrofluidos en lugares finitos, como el caso del globo ocular, permite usarlos apropiadamente en cuanto a manipulación se refiere, sólo hay que cuidar las características de diseño para que las partículas no se

mezclen con biofluidos y pudieran pasar al torrente sanguíneo. Además se observó que la reacción del propio sistema inmune de los conejos a elementos extraños es encapsularlos para evitar que éstos provocasen alguna reacción negativa dentro del ojo. Por tanto se puede confiar de igual manera en la respuesta del cuerpo humano como ayuda contra la toxicidad del ferrofluido.

- Por otro lado, la evaluación de la presión intraocular también ayudó a la evaluación de la toxicidad asociada con el dispositivo ocular. Como se puede comprobar en los apartados donde se presentan los resultados de las PIOs, tanto para partículas comerciales como los copos, en ninguno de los casos se observó que el ferrofluido incurriera en un patrón definido comparando ambos ojos, operado y control; e inclusive se observó que el ojo de control presenta peor comportamiento que el expuesto a cirugía, concluyéndose que el ferrofluido no representa un daño asociado con el aumento o disminución de la presión intraocular.
- Finalmente, ha resultado de gran relevancia que los copos, diseñados y finalmente concebidos para ser usados como taponadores de agujeros retinianos, no presentaran ninguna toxicidad sobre las células retinianas en la zona de interacción, cerca de ella o en el resto del ojo de conejo. Tal situación al momento es una importante incógnita, que tras la consulta de artículos de la toxicología asociada al empleo de nanopartículas

magnéticas como [Li et al., 2008], [Nel et al., 2006], [Xia et al., 2009], [Oberdörster et al., 2005], [Oberdörster et al., 2007], [Powell and Kanarek, 2006a], [Powell and Kanarek, 2006b] y [Karlsson et al., 2009]; pudiese estar relacionada a una reacción química conocida como REACCIÓN DE FENTON (Fenton's Reaction) [Shubayev et al., 2009] y al ESTRÉS OXIDATIVO [Xia et al., 2006] que presentan algunos metales. Aunque lo anterior aún es una hipótesis de lo que puede estar pasando, y en ninguna de las publicaciones presentadas aseveran que sean esas las causas; sí que puede ser una vía abierta a explorar para explicar lo que está pasando con los copos en la cavidad ocular.

7.2.3 Sobre la funcionalidad del dispositivo ocular in vitro

Antes de pasar a los ensayos in vivo del dispositivo ocular, se ha optado por la experimentación in vitro de los elementos, sirviendo no solamente para observar su funcionalidad efectiva sino que también puede ser usada para la caracterización de los elementos que lo componen. Las principales conclusiones se mencionan a continuación:

- Se ha concebido una primera versión de un Fantoma de Ojo Humano, que ha permitido la evaluación in vitro tanto de la funcionalidad del dispositivo ocular como de los elementos que lo componen.
- El fantoma de ojo, ha servido para probar magnéticamente los copos, esto ha sido importante puesto que, como se vio en el

apartado de resultados, los copos tuvieron que pasar un proceso de concepción y prueba continua hasta alcanzar los niveles magnéticos funcionales. Además, siguiendo el protocolo expuesto en su apartado correspondiente del escrito, se demostró la funcionalidad del dispositivo ocular, ya que las partículas (esféricas y copos) se mantuvieron agregadas a las caras activas de los imanes. Así mismo, pasado el tiempo de experimentación, al retirar los imanes se observó la desmagnetización de las partículas tal y como se esperaba gracias a los estudios teóricos y experimentales de la focalización de partículas magnéticas. Lo anterior, permite intuir que su extracción una vez que haya hecho su labor, será posible utilizando la tecnología quirúrgica que usualmente se emplea en la corrección del desprendimiento de retina. Además, fue de gran ayuda para comprobar que la forma de las partículas tiene importancia, ya que las esféricas al desmagnetizarse se precipitan instantáneamente, en cambio los copos no lo hacen. Este comportamiento se esperaría entonces que pasara en la experimentación in vivo. También dio pauta a considerar la presión ejercida por las partículas magnéticas que pudieran provocar sobre la retina.

- Por tanto, respaldando una de las conclusiones hechas de la utilización de fantasmas, su importancia radica en la evaluación a

priori de las tecnologías desarrolladas para predecir el comportamiento que éstas tendrán al ser usadas en quirófano.

- Tras lo anterior, se ha reforzado la importancia de la creación de fantomas, lo cual ha abierto una nueva línea de caracterización de la retina de cerdo para su emulación. Los resultados que han surgido de esta caracterización todavía son muy previos y se debe mejorar principalmente la técnica de disección para la obtención de las muestras de retina. Sin embargo esto es asequible y ya se ha establecido el contacto con el grupo de biomateriales de la ETSI Caminos, Canales y Puentes que poseen el equipo para hacer tal caracterización, que puede concluir en una aproximación de las características mecánicas de la retina y finalmente encontrar un material sustituto para ser usado en el fantoma de ojo.
- Finalmente, en este momento se trabaja en el LBN haciendo un fantoma de retina a base de agar-agar que permita ver si es posible la extracción del ferrofluido y cuál sería la mejor forma de hacerlo empleando el material quirúrgico convencional. Los resultados previos han mostrado que el fenómeno de desmagnetización experimentado por las partículas magnéticas cuando es retirado el explante magnético es el que permitirá su extracción sin complicaciones extras a las que normalmente se presentan durante cirugía.

7.2.4 Sobre la funcionalidad del dispositivo ocular in vivo

Para la experimentación in vivo se siguieron los protocolos expuestos en el apartado correspondiente a la metodología y respetando la normativa vigente para el tratamiento de animales. Las conclusiones más sobresalientes del tema son:

- Se ha tenido una muestra de 30 conejos lo cual es suficiente para establecer una base estadística buena, en los cuales el ojo derecho es el de control y el izquierdo es intervenido quirúrgicamente utilizando el dispositivo ocular.
- Se propusieron índices de evaluación del dispositivo ocular en base a la funcionalidad, tanto en cámara anterior como posterior, lo cual permite hacer una evaluación eficiente de la utilidad del dispositivo.
- Los resultados muestran, en primera instancia, que el 26,67% de los explantes se han salido de la posición en donde fueron colocados. Sin embargo, la mayoría de las extrusiones han sido en el primero de los ensayos (5 de 10), esto ha marcado una tendencia importante en la evolución de los explantes oculares ya que ha permitido hacer optimización de éstos a nivel fabricación y sutura. Lo anterior fue pauta para que en los ensayos subsiguientes las extrusiones pasaran a ser de 2 de 10 y 1 de 10 para las fases 2 y 3, respectivamente. Se observa que la eficiencia aumenta considerablemente al conjugar ambas optimizaciones. Aunado a lo anterior se hizo una valoración importante para el recubrimiento del

explante ocular, la cual desembocará en la obtención de uno más funcional y manejable.

- Siguiendo, en el 10% de los ojos operados existió depósito de ferrofluido en la pared ocular. Este índice deja ver que se debe optar por una mejora en la metodología de inserción para evitar dichos depósitos. Además, está ligado a la existencia de copos con poca o sin carga magnética, por tanto no hay interacción magnética y se precipitan hacia las paredes oculares. Así mismo, ha servido como indicativo de la degradación de los copos ya que la deposición fue sobre todo en la segunda fase. En la tercera fase no se observó deposición pero este hecho estuvo ligado a que el ferrofluido se sometió primeramente a un baño de ultrasonidos y posteriormente se insertaron. Se concluye que un filtrado inteligente y una dispersión previa del ferrofluido, aunado a la mejora del instrumental, permitirá la optimización y como consecuencia una reducción en el índice de valoración.
- Por otro lado, el 10% de los ojos observados tenían depósitos de ferrofluido en cámara anterior y sobre iris. Este hecho fue particular del primer ensayo y se debió a la extrusión de los explantes, ya que se iban colocando cada vez más afuera del globo ocular y esto hacía que las partículas fueran moviéndose junto con el explante. Se evolucionó favorablemente en las siguientes fases, donde ya no hubo ningún desplazamiento de copos hacia cámara anterior.

- La dispersión del ferrofluido permitió confirmar las reservas hechas al evaluar los depósitos de ferrofluido en la pared ocular sobre la degradación evidente del ferrofluido. Este comportamiento estuvo presente en el 63,33% de los ojos observados y fue más evidente en la fase tres con 8 de 10 ojos, esto puede deberse a cuatro aspectos: 1) existe una degradación del ferrofluido a nivel magnético, 2) pudieran existir copos que no tienen carga magnética desde el momento de la fabricación, por tanto un filtrado previo sería de ayuda para tener copos activos siempre, 3) puesto que en la fase tres estuvo presente en la mayoría de los especímenes, y el único cambio hecho fue la dispersión del ferrofluido con ultrasonidos para facilitar la inserción; se puede asociar el resultado a este cambio de metodología ya que un ferrofluido más diluido se dispersará más al salir de la jeringa, o 4) a una combinación de dos o más de las opciones anteriores. Con esto se deduce que la optimización de productos todavía está disponible así como de los métodos para su inserción.
- El indicativo más importante a evaluar fue la aplicación de la retina, en esta conclusión están puestas las esperanzas de toda la investigación realizada, puesto que es el fin buscado. En total el índice de éxito fue de 80% y existió un caso importante, la aplicación de un desgarro completo de retina, particularmente en el conejo 9 de la fase tres. Así mismo, existieron sobre todo en la fase

2, conejos a los cuales no se les pudo hacer la valoración porque habían quedado dañados durante la cirugía. Sin embargo, se han tomado como fracasos por no haber una valoración por parte del médico. Si se considerara el índice como un indicativo de la tendencia se podría intuir que el éxito en la reapiación de la retina subiría a un 85% aproximadamente. En conclusión, la optimización posible en todos los aspectos considerados para acomodar la retina en su lugar podría llevar a alcanzar un índice de éxito por encima del 90%.

- En cuanto a la localización del ferrofluido en el lugar adecuado, estuvo presente en el 76,67% de los casos, pero el índice estuvo castigado por la falta de visibilidad en algunos de los ojos operados porque habían sido dañados durante la cirugía. El dato importante quizá sea el presentado en la fase tres, donde los ojos evolucionaron perfectamente y la observación era posible. En esta fase la localización del ferrofluido estuvo correcta en 9 de 10 ojos. Por tanto, la interacción magnética es eficiente y mejorable.
- En el caso de la disposición del ferrofluido sobre la parte activa del explante, ésta se dio en un 66,67% de los casos estudiados. Al igual que en el índice anterior, muchas de las veces no era posible observar cómo estaba colocado el ferrofluido, así que estos datos se toman como negativos independientemente de que estuvieran correctamente ubicados. La observación importante en este caso es

que, durante las dos primeras fases la disposición del ferrofluido había sido en placa y en el ensayo tres la mayoría de los ojos presentaron una forma anular. Este resultado se asocia, al igual que la dispersión, a la falta de carga magnética, la degradación del ferrofluido o la dispersión del mismo antes de la inserción. Lo anterior se basa en que la circunferencia de los explantes es más activa magnéticamente, por lo que si los copos tienen menos carga tenderán a acomodarse en esa sección del explante. Esto aunado a una degradación y a la dispersión sufrida durante el baño de ultrasonidos, da como consecuencia la disposición en forma anular.

- Aunado a la biocompatibilidad, se hizo la evaluación del índice de la fibrina causada por el ferrofluido. Éste se presentó en el 26,67% de los casos, sin embargo en la fase dos, debido al mal estado de los ojos después de la cirugía, no se podía observar el interior del ojo. Este acontecimiento hizo que se consideraran estadísticamente como casos malos, aumentando el índice. Es de resaltar que la fibrina no se presentó en la fase 1 y en la 3 sólo en 2 de los 10 casos. Por tanto, también el resultado de la tercera fase pudiera dar indicios de una degradación del ferrofluido.
- Por otro lado, se observó que los índices que hacen referencia a la reapiación de la retina y disposición y localización del ferrofluido una vez sacrificado los conejos el índice fue del 100% para los tres casos, este hecho ha marcado el avance de la tecnología hacia una

nueva etapa de ensayos puesto que los índices se habían visto mermados porque la evaluación estuvo basada en la observación y no en pruebas que mostraran de manera funcional la reaplicación de la retina.

- La conclusión general es que el dispositivo ocular funciona biomecánicamente bien y permite taponar el agujero retiniano de manera efectiva, ayudando con la corrección del desprendimiento de retina. Esto fue corroborado post-mortem ya que en el 100% de los casos la retina estaba perfectamente colocada en su lugar sin consecuencias de siderosis o apoptosis celular. Además, la necrosis provocada no es diferente a la ocasionada por siliconas o gases e inclusive a soluciones basadas en genética como las expresadas en [Trese et al., 2012]; donde se hace una revisión profunda de la actualidad de los métodos para ayudar a la corrección del desprendimiento de retina y su conclusión más importantes es que al momento no es posible evitar la muerte celular. A espera de la realización de nuevos grupos experimentales y la mejora en la caracterización de la presión ejercida por los copos, es posible minimizar de manera sustancial la muerte celular. Lo anterior puede ser posible optimizando elementos, procesos y metodologías.
- Finalmente, se logró corregir un desprendimiento completo y taponar una herida hecha durante la cirugía, por lo que su funcionalidad no está limitada a la corrección del desprendimiento

de retina sino que también puede auxiliar en la cirugía, no solamente oftalmológica.

7.2.5 Sobre la presión ejercida por el dispositivo ocular

La importancia de la presión ejercida sobre la retina por parte de las partículas magnéticas en función del campo estático aplicado radica en que se debe incluir esta variable a la hora del diseño, porque de lo contrario se podría hacer que éstas atravesasen no solo la retina sino también coroides y esclerótica. Las conclusiones de este apartado son:

- Se han identificado parámetros importantes a considerar para ofrecer una presión controlada sobre una superficie, estos son: la forma, el tamaño, la distribución espacial de las líneas de campo desde la fuente magnética y la carga magnética de las partículas magnéticas.
- La primera está relacionada con la capacidad de presionar sobre una superficie, eliminando lo que más se pueda la formación de huecos entre partículas dando como resultado una presión superficial más homogénea. Por ejemplo, cuando se tienen partículas esféricas nunca se pueden llenar los huecos entre ellas ya que su forma imposibilita el ensamble estructurado, en cambio si las partículas son planas se apilan y ensamblan más homogéneamente unas con otras, reduciendo los huecos entre ellas.

- La segunda tiene repercusión en el acomodamiento de las estructuras y la presión que ejercerán, así como en la prevención de migración hacia las capas internas de la retina e inclusive coroides y esclerótica. Si tienen el tamaño que evite tales situaciones se habrá sopesado un problema importante.
- El diseño de la fuente magnética permite controlar el acomodo de las partículas, independientemente de la forma o tamaño que tengan. Pero hay que tener siempre presente cómo se distribuyen las líneas de campo y su valor en el espacio, ya que esto orientará de manera adecuada las partículas magnéticas.
- Además, es imprescindible hacer una caracterización magnética de las partículas magnéticas para tener seguridad de que cuentan con el mínimo de carga magnética para su activación eficiente, de lo contrario existirá precipitación de las partículas magnéticas hacia el interior del ojo o cualquier otro espacio donde se hayan insertado éstas.
- Puesto que medir la presión ejercida por las partículas intraocularmente no es posible, se ha realizado la experimentación in vitro usando un sensor prototipo de presión. Así mismo, se ha hecho un estudio de las fuerzas que actúan como una primera aproximación matemática.
- Aunque la experimentación ha sido una primera intención, los resultados son prometedores, ya que se ha identificado un cambio

importante en la resistividad del sensor cuando existe una fuerza magnética, inclusive del doble del valor cuando no hay campo estático aplicado.

- Se siguió un protocolo de experimentación que permitió evaluar diferentes distancias entre fuente magnética y partículas para hacer la evaluación del comportamiento de partículas esféricas y planares; siendo la más importante la distancia de 2,5 mm que equivale a la distancia aproximada entre la parte más interna de la retina y la superficie activa del explante ocular magnético.
- Basados en este cambio observado se ha podido comprobar que las partículas esféricas en comparación con los copos, ambas colocadas a 2,5 mm de distancia, ejercen 0.25 y 0.53 mmHg, respectivamente, usando las mismas concentraciones y cantidades. Por tanto, se comprueba la hipótesis supuesta sobre el mejor funcionamiento de los copos en comparación con las partículas esféricas. Además, la presión ejercida por los copos está 0.17 mmHg por debajo de la que los médicos oftalmólogos deseaban que era de 0,70 mmHg.
- De lo anterior se puede concluir que alcanzando valores por debajo del 0.5 mmHg entraríamos en la frontera inexplorada para minimizar la muerte celular por aplastamiento, simplemente habrá que hacer una mejora en el dispositivo de caracterización de presión para contar con valores más acertados e iniciar cambios en

la concentración y volumen insertado para ir acotando el rango hacia la mejor presión para evitar la necrosis.

- Lo anterior tiene repercusión en la estimación de la dosificación necesaria para tener los resultados deseados, es decir, se debe caracterizar la presión que ejercen las partículas magnéticas para ensayos futuros cambiando las cantidades y concentraciones, con el fin de encontrar la dosis idónea para minimizar la muerte celular y permitir la cicatrización eficaz sin dañar las capas posteriores.
- Aunado a esto, se comprobó la importancia de considerar las fuerzas hidrostáticas en un análisis más exhaustivo previo a la experimentación tanto in vitro como in vivo.
- Así mismo, se ha iniciado una nueva línea a desarrollar en el LBN que formará parte de la Plataforma NANOMAG, teniendo como finalidad la caracterización de la presión ejercida por las partículas magnéticas sobre una superficie de interés.
- En general, se ha obtenido un dispositivo ocular sintonizable, que en una primera aproximación es posible ejercer una presión controlada en el rango de 0.2 a 2.5 mmHg, simplemente cambiando la concentración de material en el ferrofluido, el volumen total insertado en el ojo o el rediseño de la fuente magnética.

7.3 Conclusiones Finales

Cuando se inició este proyecto doctoral, las aglomeraciones de partículas magnéticas no eran bien vistas por los investigadores porque causaban problemas en las aplicaciones potenciales identificadas, por lo que las tendencias era buscar la forma de eliminarlas. Sin embargo en esta tesis se ha demostrado que se les puede dar un uso diferentes si se tiene identificado perfectamente el problema a resolver, y si se estará trabajando en un lugar confinado, preferentemente. Esto permitirá una manipulación eficiente, con resultados que permitirán evaluar la funcionalidad de manera objetiva.

Queda mucho trabajo por hacer en referencia a las aplicaciones de las PMs. Su caracterización debe formar parte medular en la metodología de investigación a desarrollar, ya que ésta definirá variables importantes para el desarrollo de tecnologías capaces de ofrecer diagnóstico precoz, terapia u optimización de procesos quirúrgicos. Por tanto, la caracterización adecuada de las propiedades magnéticas, mecánicas, dinámicas, temporales y térmicas en respuesta a la aplicación de campos magnéticos estáticos o alternos, abrirá un nuevo camino para la evaluación de aplicaciones potenciales, diseño y fabricación de PMs, como se ha destacado con anterioridad.

El futuro de las diferentes áreas de investigación, micro y nanotecnológicas, dependerá del trabajo multidisciplinar que sean capaces de ofrecer los diversos grupos de investigación, entendiéndose la multidisciplinaridad de dos formas: como la conjunción de varios expertos aportando conocimiento en un tema concreto, y como un individuo que es

capaz de englobar conocimientos para poder dirigir los esfuerzos hacia el éxito. En mi caso particular, y apoyándome en que también la formación es concluyente en una tesis doctoral, me gustaría destacar que el proyecto biomédico en el que ha estado englobada mi tesis me ha permitido abrir nuevas áreas de conocimiento fuera de mi especialidad como: reología, química, biología, materiales, anatomía y fisiología del ojo humano y de conejo albino, administrativos y empresariales. Todas ellas han convergido adecuadamente para dar formación a mi persona y viéndose reflejadas en las contribuciones hechas y por hacer.

Por otro lado, estoy convencido de que será imprescindible el entendimiento de los fenómenos asociados a las partículas magnéticas para su explotación y el desarrollo de modelos teóricos que se acerquen más a las observaciones experimentales. Esto generará mejores soluciones a las potenciales aplicaciones biomédicas, aportará conocimiento y se trasladará al desarrollo de mejores fármacos, terapias, diagnóstico o soluciones a medida; menos invasivos y mas eficaces.

7.4 Trabajo Futuro

Aunque el trabajo futuro queda visible entre líneas a lo largo del escrito de Tesis, a continuación se resaltan aquellas actividades que deberán tener mayor atención para la continuación de las tecnologías, métodos y procesos presentados.

7.4.1 Recinto experimental

Su optimización deberá estar orientada hacia el uso de una pipeta automática de velocidad de salida controlada, así como la colocación de un carrete giratorio que permita aprovechar las virtudes asociadas a la pipeta, ya que ésta tiene programación para dosificación controlada por tiempo. De esta manera se podrá hacer una caracterización con mayor cantidad de muestras en un tiempo más reducido. Así mismo, continuar con el software de análisis por imagen resulta muy útil ya que es posible darle seguimiento al comportamiento de las partículas magnéticas en tiempo real. El recinto deberá contar con una zona donde se coloquen las fuentes magnéticas que permita el fácil acceso a ella y con espacio suficiente para poder variar las geometrías y tamaños.

7.4.2 Modelo matemático

En paralelo a lo anterior debe hacerse una mejor aproximación matemática que defina el comportamiento de las partículas magnéticas, lo cual puede ser una contribución importante al software de monitoreo en tiempo real; posibilitando la comparación entre la teoría y la práctica simultáneamente, que a su vez permitirá hacer un ajuste a la hora de aportar soluciones de manera más eficiente.

7.4.3 Fantoma de Sangre

Si se desea ver el comportamiento de las partículas magnéticas si éstas son colocadas en el torrente sanguíneo, se debe testear el fantoma de sangre humana, de acuerdo a las propiedades más importantes que lo definen, para comparar con el comportamiento y funcionalidad real de la sangre; permitiendo

esto tener un nivel porcentual de similitud entre ambos: fantoma y sangre real. Para lo anterior hace falta un reómetro que permita la caracterización técnica del fantoma y la sangre, y hacer pruebas en el tiempo para observar la degradación del fantoma en todos sus sentidos; la sangre se seca casi instantáneamente por lo que esto sólo conlleva la evaluación del fantoma.

7.4.4 Dispositivo ocular

El dispositivo ocular en términos de optimización tecnológica requiere de la evaluación de los pros y contras para pasar a un recubrimiento más manejable que el puesto al momento, por ejemplo un elastómero; sin embargo habrá que tener en cuenta que las propiedades estructurales que tiene el epoxi favorecen la adherencia del recubrimiento funcional que por proceso se les ha incorporado para poder contar con elementos activos como fármacos. Esta situación expuesta se desconoce en los elastómeros ya que son superficies normalmente lisas y poco activas para funcionalizarse. De manera similar, hay que evaluar las condiciones globales para incorporar nuevos grosores de imanes, sin perder los beneficios del campo magnético con respecto de la distancia necesaria para activar el movimiento de los copos.

En el caso de los copos, puesto que éstos representaban la parte más activa del dispositivo, su evaluación ha sido más completa que la de los imanes; sin embargo es necesario hacerlos pasar por un filtrado previo para contar con un ferrofluido más homogéneo y por tanto más eficiente. El filtrado puede diseñarse en el LBN aprovechando el Know-How que se ha obtenido en estos cinco años de dedicarse al entendimiento del movimiento de las PMs, ya que

haciendo un diseño inteligente de imanes permanente es posible obtener filtrados muy sensibles al tamaño o la carga de las PMs. Otra mejora que se podría hacer, aunque es menos imperativa, sería tener en el ferrofluido copos con una menor diferencia de tamaño; con lo cual se podría intuir de mejor manera su comportamiento al ser insertados en el interior del ojo o cualquier otra parte anatómica.

En cuanto a la toxicidad y biocompatibilidad es necesario conocer a detalle la actualidad de los materiales biocompatibles y todas aquellas pruebas in vitro e in vivo que evalúan su toxicidad; además de adentrarse en las teorías que ahora mismo se manejan al respecto y que pudiesen estar involucradas en los efectos y fenómenos que se han observado durante la evaluación in vivo e in vitro del dispositivo en cuestión. Esto permitirá no solamente abrir una nueva línea de investigación sino que aportará al proyecto una mayor fiabilidad de cara a la expansión de usos tanto del ferrofluido como de elementos magnéticos para su control. Además, es necesario plantearse un ensayo con conejos u otro tipo de animal que permita mantener el dispositivo ocular por un periodo de tiempo largo (6 meses o más) para observar los efectos tóxicos de los elementos que componen el dispositivo a largo plazo, una vez más se verá reflejado en la confianza de inversores y/o colaboradores del proyecto.

El funcionamiento biomecánico puede ser optimizado haciendo uso de un sensor de presión menos dependiente de la temperatura o cualquier otro ruido de cuarto. Con esto se podrá acotar con mayor precisión el rango de uso del dispositivo, que a su vez favorecerá el conocimiento de la dosificación idónea

para ejercer la presión sobre las células retinales sin causar necrosis. Aunado a esto, para encontrar la dosificación mencionada únicamente es necesario variar concentraciones y/o carga magnética de los copos; estos procesos se pueden evaluar in vitro e in vivo. Por tanto, nuevas etapas de ensayos con animales deben plantearse.

Por otro lado, los procesos de obtención de los copos y de los explantes oculares magnéticos ya no requieren de una nueva etapa para su producción, por lo que es posible el inicio de las certificaciones pertinentes ante la Agencia del Medicamento y Productos Sanitarios. Así mismo, se está en el momento justo para hacer la internacionalización de la patente, la cual ya se está gestionando.

Es imperativo hacer una nueva serie de ensayos con animales, ya no únicamente con conejos sino también con cerdos o perros. Esta propuesta puede abrir las posibilidades para corroborar los resultados obtenidos en las cuatro primeras fases y demostrar su utilidad en animales domésticos y seres humanos. Además es el previo para que el dispositivo pueda iniciar su prueba en las cuatro fases solicitadas para su uso en seres humanos.

La concepción de un fantoma no solamente de ojo sino de retina puede coadyuvar sustancialmente en las tareas pendientes para la culminación del proyecto para la utilización de ferrofluidos como taponadores de retina. En este momento ya se han empezado paralelamente el desarrollo de un fantoma de retina basado en Agar-agar el cual la emula en grosor y apariencia laminar. Sin embargo también se podría hacer uso de técnicas de cultivos celulares para

hacer un fantoma mucho más cercano a la realidad para el cual se debe encontrar la mejor línea celular capaz de aportar la mayor cantidad de propiedades y características similares a la retina. Lo anterior podría iniciarse con la utilización de fibroblastos e ir avanzando hacia el uso de células progenitoras de retina.

Aunado a todo lo anterior, se deberá insistir en la caracterización de las propiedades mecánicas de la retina de cerdo. Continuar este trabajo será dependiente del buen dominio de la disección de la retina de cerdo la cual ya se ha logrado en una primera aproximación pero faltó conseguir depositarla en el portamuestras para el Nanoindenter de manera adecuada para obtener respuestas fiables de la resistencia de la retina. Este trabajo tiene un alto contenido innovador ya que al momento no se han encontrado trabajos similares, pero sobretodo permitirá conseguir aproximaciones más veraces al fantoma de retina; y en consecuencia la experimentación in vitro será más fiable y transferible a la experimentación in vivo.

Por otro lado, los resultados obtenidos en la experimentación in vitro e in vivo del dispositivo ocular ha permitido visualizar la necesidad de diseño y fabricación de nuevos dispositivos que auxilien a los médicos, ya sea durante la cirugía o posteriormente para mejorar los resultados de la técnica desarrollada. Por tanto se debe continuar con el desarrollo de tales equipos auxiliares en conjunto con los médicos para conocer sus necesidades primarias y ofrecer las mejores soluciones posibles a los problemas planteados. Uno de estos

dispositivos es un extractor para el ferrofluido con el cual se buscaría nulificar los efectos tóxicos que pudieran aparecer debidos al dispositivo.

Finalmente, el dispositivo desarrollado para el taponamiento de agujeros retinianos tiene diversas ventajas asociadas que no solamente pueden ser útiles en este tipo de cirugías, por lo que es imperativo diversificar los usos de los elementos que componen el dispositivo ocular. Tras el análisis de los resultados y las conclusiones se han identificado varias nuevas oportunidades, sin embargo no se mencionarán porque son susceptibles de patente y la experiencia de todos estos años de desarrollo nos dice que es mejor no dejar cabos sueltos que pudiesen entorpecer tales intenciones.

Referencias

- [cor, 2008] (2008). *NANOSPAIN 2008: NANOIBERIAN CONFERENCE*.
- [cor, 2009] (2009). *NANOSPAIN 2009: NANOIBERIAN CONFERENCE*.
- [Adams et al., 2008] Adams, J. D., Kim, U., and Soh, H. T. (2008). Multitarget magnetic activated cell sorter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(47):18165–18170. PT: J; TC: 0; UT: WOS:000261489300025.
- [Akduman, 2010] Akduman, L. (2010). Method and apparatus for sutureless injectable retinal detachment sponge implantation.
- [Alekseev and Tikhomirova, 2003] Alekseev, B. N. and Tikhomirova, T. V. (2003). [use of prenacide magnetophoresis in complex treatment of some ocular diseases]. *Vestn Oftalmol*, 119(5):47–8. PT: J; TC: 0; UT: MEDLINE:14598498.
- [Alexiou et al., 2006] Alexiou, C., Diehl, D., Henninger, P., Iro, H., Rockelein, R., Schmidt, W., and Weber, H. (2006). A high field gradient magnet for magnetic drug targeting. *IEEE Transactions on Applied Superconductivity*, 16(2):1527–1530. PT: J; TC: 2.
- [Alexiou et al., 2005] Alexiou, C., Jurgons, R., Schmid, R., Hilpert, A., Bergemann, C., Parak, F., and Iro, H. (2005). In vitro and in vivo investigations of targeted chemotherapy with magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293(1):389–393. PT: J; SI: SI; TC: 26.
- [Alu and Engheta, 2009] Alu, A. and Engheta, N. (2009). Guided propagation along quadrupolar chains of plasmonic nanoparticles. *Physical review.B, Condensed matter*, 79(23).
- [Andreev et al., 2009a] Andreev, A. A., Gundorova, R. A., Neroev, V. V., and Sarygina, O. I. (2009a). Vitreoretinal surgery technique.
- [Andreev et al., 2009b] Andreev, A. A., Neroev, V. V., and Sarygina, O. I. (2009b). Therapy of rhegmatogenous retinal detachment.
- [Association, 2011] Association, T. N. A. (2011). Alzheimer disease. <http://www.alz.org/index.asp>.
- [Aurich et al., 2007] Aurich, K., Schwalbe, M., Clement, J. H., Weitschies, W., and Buske, N. (2007). Polyaspartate coated magnetite nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311(1):1.
- [Aznar et al., 2010] Aznar, E., Mina, A., García, R. A., Marcos, M. D., Martínez, R., and Serrano, J. J. (2010). Desarrollo de un nuevo nanodispositivo para liberación activada mediante hipertermia magnética. In *idm IV Workshop on Sensors and Molecular Recognition*.
- [Barnes et al., 2007] Barnes, A. L., Wassel, R. A., Mondalek, F., Chen, K., Dormer, K. J., and Kopke, R. D. (2007). Magnetic characterization of superparamagnetic nanoparticles pulled through model membranes. *Biomagn Res Technol*, 5:1. PT: J; TC: 0; UT: MEDLINE:17204157.

- [Beccaro et al., 2009] Beccaro, M., Bettini, E., Conte, L., Signori, P., and Zaggia, A. (2009). Fluoroalkyloxy alkanes process for production and uses thereof.
- [Bedanta and Kleemann, 2009] Bedanta, S. and Kleemann, W. (2009). Topical review superparamagnetism. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 42:013001.
- [Belyj et al., 2008] Belyj, Y. A., Tereshchenko, A. V., Volodin, P. L., and Ivanov, A. M. (2008). Method of preventive treatment of retinal detachment at penetrating wound of eyebulb with intraocular debris impacted into operculum of posterior pole of eye.
- [Bingaman and Klimko, 2010] Bingaman, D. P. and Klimko, P. (2010). Histone deacetylase inhibitors for the treatment of ocular neovascular or edematous disorders and diseases.
- [Biris et al., 2009] Biris, A., Boldor, D., Palmer, J., Monroe, W., Mahmood, M., and Dervishi, E. (2009). Nanophotothermolysis of multiple scattered cancer cells with carbon nanotubes guided by time-resolved infrared thermal imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 14(2).
- [Blanda et al., 2010] Blanda, W. M., Liu, H., Robinson, M. R., and Whitcup, S. M. (2010). Intra-ocular formulation.
- [Boral et al., 2009] Boral, S., Devries, G. W., Edelman, J. L., Guo, X., Hughes, P., Malone, T. C., Shiah, J. G., Spada, L. T., and Wurster, J. A. (2009). Kinase inhibitors.
- [Brinton et al., 2009] Brinton, D., Wilkinson, C., and Hilton, G. (2009). *Retinal detachment: principles and practice*, volume 1. Oxford University Press, USA.
- [Bru, 2009] Bru, L. (2009). *Física*. Librería Internacional de Romo S.L., 11 edition.
- [Burkstrand et al., 2008] Burkstrand, M. J., Erickson, S. R., Chudzik, S. J., and Reed, P. J. (2008). Biodegradable ocular implants and methods for treating ocular conditions.
- [Calderón, 2011] Calderón, P. M. C. (2011). Caracterización de la presión ejercida y la velocidad promedio alcanzada por partículas magnéticas en respuesta a campos magnetostáticos para aplicaciones oftalmológicas. Master's thesis, Universidad Politécnica de Madrid.
- [Cao et al., 2010] Cao, H., Jiang, X., Chai, C., and Chew, S. (2010). Rna interference by nanofiber-based sirna delivery system. *Journal of Controlled Release*, 144(2):203–212.
- [Chang et al., 2010] Chang, Z., Li, F., and Yang, Q. (2010). Therapeutic pillow applicable to patient with retinal detachment.
- [Chemicell, 2011] Chemicell (2011). Magnetic microparticles. Electronic.
- [Choi et al., 2008] Choi, K., Lee, S., Youn, K., Yu, K., Choi, E., Ahn, S., and Lee, S. (2008). Skin permeation of nanoparticles by magnetophoresis in hairless mouse skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 128:651. PT: J; CT: International Investigative Dermatology Meeting; CY: MAY 14-17, 2008; CL: Kyoto, JAPAN; TC: 0; UT: WOS:000254353800646.
- [Choonara, 2011] Choonara, Y. E., P. V. C. T. R. M. L. C. D. T. L. C. N. S. W. C. (2011). In vivo evaluation of a biodegradable donut-shaped minitabiet for prolonged

posterior segment drug delivery in the rabbit eye model. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100:1819–1832.

[Chorny et al., 2009] Chorny, M., Fishbein, I., and Levy, R. J. (2009). Uniform-field induced magnetization enables efficient targeting of adenovirus-impregnated magnetic nanoparticles to stented arteries in the rat carotid model of restenosis. *Circulation*, 120(18 Supplement):S594.

[Chorny et al., 2010] Chorny, M., Hood, E., Levy, R., and Muzykantov, V. (2010). Endothelial delivery of antioxidant enzymes loaded into non-polymeric magnetic nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 146(1):144–151.

[Chudzik et al., 2007a] Chudzik, S., Erickson, S. R., and Missling, J. J. (2007a). Biodegradable hydrophobic polysaccharide-based drug delivery implants.

[Chudzik et al., 2007b] Chudzik, S., Erickson, S. R., and Missling, J. J. (2007b). Biodegradable hydrophobic polysaccharide-based drug delivery implants.

[Codreanu A, 2011] Codreanu A, Tran HV, W. C. M. K. R. S. M. A. S. C. (2011). In vivo study comparing an x-shaped polymethylmethacrylate and a cylindrical collagen implant for deep sclerectomy. *Clin Experiment Ophthalmol*, 39(2):135–141.

[Correia and Serena, 2008] Correia, A. and Serena, P. (2008). *Nanociencia y Nanotecnología en España*. Fundación Phantoms.

[Dailey and Riffle, 2005] Dailey, J. P. and Riffle, J. (2005). Magnetized scleral buckle, polymerizing magnetic polymers, and other magnetic manipulations in living tissue.

[Desai et al., 2008] Desai, T. A., Tao, S., Young, M., and Klassen, H. J. (2008). Topographically engineered structures and methods for using the same in regenerative medicine applications.

[Dexter, 2012] Dexter, T. (2012). Materials for permanent magnets.

[Doelle et al., 2010] Doelle, C., Grunwald, I., Hielscher, W., OTT, M., Salz, D., Vissing, K., and Wagener, M. (2010). Biocompatibility layer, and coated objects.

[Doi M, 2000] Doi M, Ning M, I. H. U. Y. R. M. (2000). Histopathologic retinal changes with intravitreal fluorosilicone oil in rabbit eyes. *Retina*, 20(5):532–536.

[Donello et al., 2007a] Donello, J. E., Yang, R., and Donello, J. (2007a). Ocular therapy using sirtuin-activating agents.

[Donello et al., 2007b] Donello, J. E., Yang, R., Woldemussie, E., and Schweighoffer, F. J. (2007b). Vasoactive agent intraocular implant.

[E. Marzec, 2011] E. Marzec, J. Olszewski, E. G. A. K. A. B. K. I. (2011). Dielectric studies of the paracetamol-lenticular tissue interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84(1):131–134.

[Eizzi et al., 2009] Eizzi, R., Kannan, R. M., Kannan, S., and Rajaguru, B. (2009). Dendrimers for sustained release of compounds.

[Ferro et al., 2009] Ferro, V., Serrano, J., Fernández, T., Ramos, M., and del Pozo, F. (2009). Caracterización del comportamiento magnético y mecánico de nanopartículas en biofluidos y células con un agfm. In *XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*.

- [Ferro et al., 2010a] Ferro, V., Serrano, J., Fernández, T., Ramos, M., Maestú, C., and del Pozo, F. (2010a). Alternating gradient field magnetometers as a tool for the investigation on the mechanical and magnetic behavior of magnetic nanoparticles in biological samples. In *Nano4Cancer*.
- [Ferro et al., 2010b] Ferro, V., Serrano, J., Fernández, T., Ramos, M., Maestú, C., and del Pozo, F. (2010b). Using alternating gradient field magnetometers for the characterization of the mechanical and magnetic behavior of magnetic nanoparticles in biological samples. In *Proceedings of the Nanospain 2010 Conference*.
- [Ferro et al., 2008] Ferro, V., Serrano, J., Maestú, C., Sánchez, C., Maicas, M., Aroca, C., Sanz, M., and del Pozo, F. (2008). El magnetómetro por gradiente alternante de campo: una nueva herramienta para la caracterización de nanopartículas magnéticas en biofluidos y tejidos biológicos. In *XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*.
- [Fischer et al., 2005] Fischer, B., Huke, B., Lücke, M., and Hempelmann, R. (2005). Brownian relaxation of magnetic colloids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 289:74–77.
- [Félix et al., 2010] Félix, N., Serrano, J., Maestú, C., and del Pozo, F. (2010). Challenges on the characterization of superparamagnetic particles as contrast agents in mri. In *Proceedings of the Nanospain 2010 Conference*.
- [Félix et al., 2009a] Félix, N., Serrano, J. J., and del Pozo, F. (2009a). Discrepancias encontradas al evaluar un modelo teórico con datos experimentales en la caracterización de nanopartículas como agente de contraste en imágenes de rm. In *XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*.
- [Félix et al., 2009b] Félix, N., Serrano, J. J., and del Pozo, F. (2009b). Noticed discrepancies when evaluating experimental data against theoretical model on the characterization of superparamagnetic particles as contrast agents in mri. In *In the 6th Conference Field Cycling Relaxometry 2009 proceedings*.
- [Fujita et al., 2010] Fujita, Y., Habashita, S., Hirai, S., Matsushita, T., and Yoshida, A. (2010). Prophylactic or therapeutic agent for retinal diseases comprising polyalkylene glycol as active ingredient.
- [Fukumori and Ichikawa, 2006] Fukumori, Y. and Ichikawa, H. (2006). Nanoparticles for cancer therapy and diagnosis. *Advanced Powder Technology*, 17(1):1.
- [Foundation, 2009a] Foundation, P. (2009a). Conference abstract book. Electronic. http://www.nanospainconf.org/2009/AbstractBooklet_Nanospain2009.pdf.
- [Foundation, 2009b] Foundation, P. (2009b). Conference abstract book (posters). Electronic. http://www.nanospainconf.org/2009/AbstractBooklet_Nanospain2009_Posters.pdf.
- [Foundation, 2010a] Foundation, P. (2010a). Conference abstract book. Electronic. http://www.nanospainconf.org/2010/Booklet_Nanospain2010.pdf.
- [Foundation, 2010b] Foundation, P. (2010b). Conference abstract book (posters). Electronic. http://www.nanospainconf.org/2010/Booklet_Nanospain2010_Posters.pdf.

- [G., 1977] G., T. (1977). Vitreous inflammatory reaction. vitreous inflammation in rabbits, induced by saline, air, or sodium salt of hyaluronic acid. *Mod Probl Ophthalmol*, 18:265–270.
- [Gall et al., 2009] Gall, A., Hong, F., Kuksa, V. A., Little, T., Orme, M. W., and Scott, I. L. (2009). Alkoxy compounds for disease treatment.
- [García et al., 2012] García, R., Serrano, J., Mina, A., Casas, D., Losada, D., Muñoz, F., Noval, A., Manso, M., Rebolleda, G., Martín, R., and Torres, V. (2012). Dispositivo ocular.
- [García et al., 2010a] García, R., Serrano, J. J., Mina, A., and del Pozo, F. (2010a). Magnetic fields interactions phenomena in guidance and focusing of magnetic micro and nanoparticles. In *Proceedings of the Nanospain Conference*.
- [García et al., 2009] García, R. A., Macías, A., Serrano, J., and del Pozo, F. (2009). Primeras experiencias en guiado y focalización de micro y nanopartículas magnéticas con fines biomédicos. In *XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*.
- [García et al., 2011] García, R. A., Macías, A., Serrano, J., and del Pozo, F. (2011). Fantoma de sangre humana.
- [García et al., 2010b] García, R. A., Mina, A., Félix, N., Serrano, J., and del Pozo, F. (2010b). Caracterización de micro y nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas. *Revista Biotecnología y Bioingeniería*, 14(2):43–59.
- [García del Moral, 1993] García del Moral, R. (1993). *Laboratorio de anatomía patológica*. McGraw-Hill Interamericana de España.
- [Garvey et al., 2009] Garvey, M. J., Williams, R. L., and Wong, D. S. H. (2009). Composition for the treatment of a detachment retina and method of production thereof.
- [Getzlaff, 2007] Getzlaff, M. (2007). *Fundamentals of Magnetism*. Springer, Germany.
- [Gong and Wang, 2009] Gong, Y. and Wang, Z. (2009). Method for repairing retina under action of magnetic field and magnet.
- [Grieger et al., 2009] Grieger, K., Hansen, S., and Baun, A. (2009). The known unknowns of nanomaterials: Describing and characterizing uncertainty within environmental, health and safety risks. *Nanotoxicology*, 3(3):1–U17.
- [Gurova and Babina, 2008] Gurova, N. Y. and Babina, L. M. (2008). Use of magnetophoresis of glutamic acid and magnesium sulfate in the rehabilitation of children with cerebral palsy. *Neurosci Behav Physiol*, 38(9):947–51. PT: J; TC: 0; UT: MEDLINE:18975105.
- [Hardy and Yang, 2009] Hardy, P. and Yang, C. (2009). Anti-angiogenesis, anticancer proliferation properties of lymphocytic-derived microparticles.
- [Hatch and Stelter, 2001] Hatch, G. P. and Stelter, R. E. (2001). Magnetic design considerations for devices and particles used for biological high-gradient magnetic separation (hgms) systems. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 225(1-2):262–276. PT: J; CT: 3rd International Conference on Scientific and Clinical

Applications of Magnetic Carriers; CY: MAY 03-06, 2000; CL: ROSTOCK, GERMANY; TC: 43; UT: WOS:000168288100042.

[Hawley and Hawley, 2004] Hawley, T. and Hawley, R. (2004). *Flow cytometry protocols*, volume 263. Springer.

[Hegazy HM, 1999] Hegazy HM, Peyman GA, L. C. U. M. M. L. K. A. (1998-1999). Use of perfluorocarbon liquids, silicone oil, and 5-fluorouracil in the management of experimental pvr. *Int Ophthalmol*, 22(4):239–246.

[Hill and Chabanis, 2011] Hill, A. and Chabanis, G. (2011). A basic introduction to rheology. <http://www.malvern.com/malvern/ondemand.nsf/id/JLED-7VHKAL>.

[Holligan et al., 2003] Holligan, D. L., Gillies, G. T., and Dailey, J. P. (2003). Magnetic guidance of ferrofluidic nanoparticles in an in vitro model of intraocular retinal repair. *Nanotechnology*, 14(6):661–666. PT: J; UT: ISI:000184011500018.

[Hong Y, 1998] Hong Y, Chirila TV, V. S. S. W. L. X. D. P. (1998). Biodegradation in vitro and retention in the rabbit eye of crosslinked poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone) hydrogel as a vitreous substitute. *J Biomed Mater Res*, 39(4):650–659.

[Huang et al., 2008a] Huang, G. T., Nivaggioli, T., Spada, L. T., Sugimoto, H., Blanda, W. M., Chang, J. M., and Olejnik, O. (2008a). Methods for reducing neovascularization or edema.

[Huang et al., 2008b] Huang, G. T., Nivaggioli, T., Spada, L. T., Sugimoto, H., Blanda, W. M., and M., J. (2008b). Sustained release intraocular implants and related methods.

[Hughes et al., 2008] Hughes, P. M., Malone, C., Devries, G. W., Edelman, J. L., Chang-Lin, J., and Nivaggioli, T. (2008). Sustained release intraocular implants containing tyrosine kinase inhibitors and related methods.

[Ivanova et al., 2010] Ivanova, E. V., Kachalina, G. F., Kasmynina, T. A., and Takhchidi, K. H. P. (2010). Method of treatment of morphofunctional disturbance of central zone of retina following vitreoretinal surgery of retinal detachment.

[Jablonski, 2008] Jablonski, M. M. (2008). Glycan-binding proteins as therapeutic targets for retinal disorders and treatment methods based thereon.

[Jeon et al., 2010] Jeon, Y., Kim, Y., Choi, K., Piao, J., Quan, B., and Lee, Y. (2010). In vivo imaging of sentinel nodes using fluorescent silica nanoparticles in living mice. *Molecular imaging and biology*, 12(2):155–162.

[Jimenez et al., 2006] Jimenez, A. B., Hau, J. D. D. Q., Montano, J. R. T., Sánchez, M. I. L., Ponce, H. F., and Jimenez, B. A. (2006). Implants and microspheres for the sustained release of drugs for ophthalmic use and preparation methods thereof.

[Jing et al., 2008] Jing, Y., Mal, N., Williams, P. S., Mayorga, M., Penn, M. S., Chalmers, J. J., and Zborowski, M. (2008). Quantitative intracellular magnetic nanoparticle uptake measured by live cell magnetophoresis. *Faseb Journal*, 22(12):4239–4247. PT: J; TC: 0; UT: WOS:000261254800023.

[Johansson et al., 2010] Johansson, F., Jonsson, M., Alm, K., and Kanje, M. (2010). Cell guidance by magnetic nanowires. *Experimental cell research*, 316(5):688–694.

- [Kalambur et al., 2005] Kalambur, V. S., Han, B., Hammer, B. E., Shield, T. W., and Bischof, J. C. (2005). In vitro characterization of movement, heating and visualization of magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Nanotechnology*, 16(8):1221–1233. PT: J; TC: 24; UT: WOS:000231410600041.
- [Karageozian, 2009] Karageozian, H. L. (2009). Optic nerve implants.
- [Karlsson et al., 2009] Karlsson, H., Gustafsson, J., Cronholm, P., et al. (2009). Size-dependent toxicity of metal oxide particles—a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicology letters*, 188(2):112–118.
- [Kashevsky et al., 2006] Kashevsky, B. E., Kashevsky, S. B., Prokhorov, I. V., Aleksandrova, E. N., and Istomin, Y. P. (2006). Magnetophoresis and magnetic susceptibility of hela tumor cells. *Biofizika*, 51(6):1026–1032. PT: J; TC: 0; UT: WOS:000242456300009.
- [Khan et al., 2003] Khan, T. K., Oh, P., Chen, Y., Dietrich, C., and Jacobson, K. (2003). Magnetophoresis as a tool for exploring lateral heterogeneity in membranes. *Biophysical journal*, 84(2):375A–375A. PT: J; CT: 47th Annual Meeting of the Biophysical-Society; CY: MAR 01-05, 2003; CL: SAN ANTONIO, TEXAS; TC: 0; UT: WOS:000183123801837.
- [Kim et al., 2009] Kim, S., Ratchford, D., and Li, X. (2009). Atomic force microscope nanomanipulation with simultaneous visual guidance. *ACS nano*, 3(10):2989–2994.
- [Kotitz et al., 1999] Kotitz, R., Weitschies, W., Trahms, L., and Semmler, W. (1999). Investigation of brownian and neel relaxation in magnetic fluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 201:102.
- [Kubota et al., 2010] Kubota, R., Kuksa, V. A., and Scott, I. L. (2010). Sulfur-linked compounds for treating ophtalmic diseases and disorders.
- [Kunzler et al., 2007] Kunzler, T. P., Huwiler, C., Drobek, T., Vörös, J., and Spencer, N. D. (2007). Systematic study of osteoblast response to nanotopography by means of nanoparticle-density gradients. *Biomaterials*, 28(33):5000.
- [Laukhin et al., 2011] Laukhin, V., Sánchez, I., Moya, A., Laukhina, E., Martin, R., Ussa, F., Rovira, C., Guimera, A., Villa, R., Aguiló, J., Pastor, J. C., and Veciana, J. (2011). Non-invasive intraocular pressure monitoring with a contact lens engineered with a nanostructured polymeric sensing film. *Sensors and Actuators A: Physical*.
- [Laukhina et al., 2010] Laukhina, E., Pfattner, R., Ferreras, L., Galli, S., Mas-Torrent, M., Masciocchi, N., Laukhin, V., Rovira, C., and Veciana, J. (2010). Ultrasensitive piezoresistive all-organic flexible thin films. *Advanced Materials*, 22(9):977–981.
- [Leigh et al., 2005] Leigh, D. R., Steinert, S., Moore, L. R., Chalmers, J., and Zborowski, M. (2005). Cell tracking velocimetry as a tool for defining saturation binding of magnetically conjugated antibodies. *Cytometry Part a*, 66A(2):103–108. PT: J; TC: 4; UT: WOS:000230841200003.

- [Li et al., 2008] Li, N., Xia, T., and Nel, A. (2008). The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(9):1689–1699.
- [Li et al., 2010] Li, X., Koller, G., Huang, J., Silvio, L. D., Renton, T., and Esat, M. (2010). A novel jet-based nano-hydroxyapatite patterning technique for osteoblast guidance. *Journal of the Royal Society interface*, 7(42):189–197.
- [Lipshitz et al., 2007] Lipshitz, I., Lipshitz, Y., Issac, L., and Yariv, L. (2007). Intra-ocular implant.
- [Liu et al., 2007] Liu, C. X., Lagae, L., and Borghs, G. (2007). Manipulation of magnetic particles on chip by magnetophoretic actuation and dielectrophoretic levitation. *Applied Physics Letters*, 90(18). PT: J; TC: 3; UT: WOS:000246210000150.
- [Liu et al., 2010] Liu, H., Hua, M., Yang, H., Huang, C., Chu, P., and Wu, J. (2010). Magnetic resonance monitoring of focused ultrasound/magnetic nanoparticle targeting delivery of therapeutic agents to the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(34):15205–15210.
- [Luciani et al., 2009] Luciani, A., Wilhelm, C., Bruneval, P., Cunin, P., Autret, G., Rahmouni, A., Clement, O., and Gazeau, F. (2009). Magnetic targeting of iron-oxide-labeled fluorescent hepatoma cells to the liver. *Eur Radiol*, 19(5):1087–96. PT: J; TC: 0; UT: MEDLINE:19137308.
- [Álvaro Muñoz Noval, 2011] Álvaro Muñoz Noval (2011). *Estructuras Híbridas de Silicio Poroso y Metal/ Óxido de Metal: Síntesis, Caracterización y Aplicaciones en Biomedicina*. PhD thesis, Universidad Autónoma de Madrid.
- [Lyons et al., 2008] Lyons, R. T., Chang, J. M., Trogden, J. T., and Whitcup, S. M. (2008). Methods for treating a posterior segment of an eye.
- [Ma et al., 2009] Ma, Y., Wu, S., Wu, T., Chang, Y., Hua, M., and Chen, J. (2009). Magnetically targeted thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator bound to polyacrylic acid-coated nanoparticles. *Biomaterials*, 30(19):3343–3351.
- [Macías et al., 2009] Macías, A., García, R., Serrano, J., and del Pozo, F. (2009). Procedimiento para caracterizar fluidos a base de agar para experimentación con nanopartículas magnéticas en aplicaciones de guiado y focalización. In *XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*.
- [Majetich and Sachan, 2006] Majetich, S. A. and Sachan, M. (2006). Magnetostatic interactions in magnetic nanoparticle assemblies: energy, time and length scales. *Journal of Physics D-Applied Physics*, 39:R407–R422. PT: J; TC: 14; UT: WOS:000242476000002.
- [Margaret D.M. Evans, 2011] Margaret D.M. Evans, Ruby K. Prakasam, P. K. V. T. C. H. W. K. J. S. W. K. M. M. G. J. G. A. M. R. Z. X. D. F. S. (2011). A perfluoropolyether corneal inlay for the correction of refractive error. *Biomaterials*, 32(12):3158–3165.
- [McGinnis et al., 2009] McGinnis, J. F., Wong, L. L., and Zhou, X. (2009). Inhibition of neovascularization by cerium oxide nanoparticles.

- [Medrano-Palafox et al., 2010] Medrano-Palafox, J., Baiza-Durán, L., Contreras-Rubio, A., Álvarez Delgado, J., Chávez-Villa, K., Luca-Brown, A., and Urquides-Espinoza, L. (2010). Presión intraocular en conejos albinos nueva zelanda: experiencia con tonómetro de goldman. *Revista Mexicana de Oftalmología*, 84(1):1–4.
- [Mina et al., 2010] Mina, A., García, R., Serrano, J., del Pozo, F., and Maestú, C. (2010). First studies with a new wide frequency range device for the induction of hyperthermia in magnetic fluids, for magnetic fluids experimentation in biomedical applications. In *Proceedings of the Nanospain Conference*.
- [Mina et al., 2009] Mina, A., Peramo, M. A., Serrano, J., and del Pozo, F. (2009). Generación de hipertermia mediante campos magnéticos alternos, aplicada en muestras con nanopartículas magnéticas: fenómenos físicos y primeros resultados. In *XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*.
- [Mitry et al., 2010] Mitry, D., Charteris, D., Fleck, B., Campbell, H., and Singh, J. (2010). The epidemiology of rhegmatogenous retinal detachment: geographical variation and clinical associations. *British Journal of Ophthalmology*, 94(6):678.
- [Moll, 2009] Moll, F. H. (2009). Surgery methods using a robotic instrument system.
- [Moore et al., 2006] Moore, L. R., Fujioka, H., Williams, P. S., Chalmers, J. J., Grimberg, B., Zimmerman, P. A., and Zborowski, M. (2006). Hemoglobin degradation in malaria-infected erythrocytes determined from live cell magnetophoresis. *Faseb Journal*, 20(2):747–+. PT: J; TC: 6; UT: WOS:000237698700038.
- [Moreira H, 1992] Moreira H, de Queiroz JM Jr, L. P. M. P. (1992). Toxicity study of two perfluorocarbon liquids in rabbit eyes. *Cornea*, 11(5):376–379.
- [Mornet et al., 2004] Mornet, S., Vasseur, S., Grasset, F., and Duguet, E. (2004). Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy. *Journal of materials chemistry*, 14(14):2161.
- [Nel et al., 2006] Nel, A., Xia, T., Mädler, L., and Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761):622–627.
- [Niemeyer, 2001] Niemeyer (2001). Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: Biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie (International ed.)*, 40(22):4128.
- [Nivaggioli et al., 2006] Nivaggioli, T., Weber, D. A., Weber, D., Nevagari, T., and web, D. A. (2006). Microimplants for ocular administration.
- [Noroev et al., 2009] Noroev, V. V., Sarygina, O. I., and Slobodchikov, M. A. (2009). Method of choosing surgical tactics in children rhegmatogenous retinal detachment.
- [Oberdörster et al., 2005] Oberdörster, G., Oberdörster, E., and Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental health perspectives*, 113(7):823.
- [Oberdörster et al., 2007] Oberdörster, G., Stone, V., and Donaldson, K. (2007). Toxicology of nanoparticles: a historical perspective. *Nanotoxicology*, 1(1):2–25.
- [Pankhurst et al., 2003] Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K., and Dobson, J. (2003). Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D-Applied Physics*, 36(13):R167–R181. PT: J; UT: ISI:000185360900004.

- [Park et al., 2009] Park, J. S., Song, S. H., and Jung, H. I. (2009). Continuous focusing of microparticles using inertial lift force and vorticity via multi-orifice microfluidic channels. *Lab on a Chip*, 9(7):939–948. PT: J; TC: 0; UT: WOS:000264256200012.
- [Parker and Studders, 1962] Parker, R. J. and Studders, R. J. (1962). *Permanent Magnets and Their Application*. John Wiley & Sons, United States of America.
- [Pigarev, 2011] Pigarev, I. Fedorov, G. L. E. M. J. P. M. A. H. (2011). Visually triggered k-complexes: a study in new zealand rabbits. *Experimental Brain Research*, 12(1):131–142.
- [Pocock and Richards, 2005] Pocock, G. and Richards, C. D. (2005). *Fisiología Humana: la base de la medicina*. Masson S.A., segunda edition.
- [Powell and Kanarek, 2006a] Powell, M. and Kanarek, M. (2006a). Nanomaterial health effects-part 1: background and current knowledge. *WMJ-MADISON*-, 105(2):16.
- [Powell and Kanarek, 2006b] Powell, M. and Kanarek, M. (2006b). Nanomaterial health effects-part 2: uncertainties and recommendations for the future. *Wisconsin Medical Journal*, 105(3):18–23.
- [Quantotec, 2008] Quantotec (2008). Alpha series: Viscosímetro rotacional. Technical report, Quantotec, S.L.
- [Romanus et al., 2002] Romanus, E., Hüchel, M., Grob, C., Prass, S., Weitschies, W., Bräuer, R., and Weber, P. (2002). Magnetic nanoparticle relaxation measurement as a novel tool for in vivo diagnostics. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252(1-3):387.
- [Rosensweig, 2002] Rosensweig, R. E. (2002). Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252:370–374.
- [R.S. Bhatta, 2011] R.S. Bhatta, H. Chandasana, C. R. D. K. Y. C. G. J. (2011). Bioanalytical method development and validation of natamycin in rabbit tears and its application to ocular pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54(5):1096–1100.
- [Rudyak and Belkin, 2003] Rudyak, V. Y. and Belkin, A. A. (2003). Nanoparticle velocity relaxation in a condensed carrying medium. *Technical Physics Letters*, 29(7):560–562.
- [Schmidl et al., 2007] Schmidl, F., Weber, P., Koettig, T., Büttner, M., Prass, S., Becker, C., Mans, M., Heinrich, J., Röder, M., Wagner, K., Berkov, D. V., Görnert, P., Glöckl, G., Weitschies, W., and Seidel, P. (2007). Characterization of energy barrier and particle size distribution of lyophilized ferrofluids by magnetic relaxation measurements. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311(1):171.
- [Seip et al., 2010] Seip, R., Chin, C., Hall, C., Raju, B., Ghanem, A., and Tiemann, K. (2010). Targeted ultrasound-mediated delivery of nanoparticles: On the development of a new hifu-based therapy and imaging device. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, 57(1):61–70.
- [Seliger et al., 2007] Seliger, C., Jurgons, R., Wiekhorst, F., Eberbeck, D., Trahms, L., Iro, H., and Alexiou, C. (2007). In vitro investigation of the behaviour of magnetic

particles by a circulating artery model. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311(1):358–362. PT: J; CT: 6th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers; CY: MAY 17-30, 2006; CL: IMC Univ Appl Sci, Krems, AUSTRIA; TC: 3; UT: WOS:000245524800072.

[Shi et al., 2009] Shi, M., Lu, J., and Shoichet, M. (2009). Organic nanoscale drug carriers coupled with ligands for targeted drug delivery in cancer. *Journal of materials chemistry*, 19(31):5485–5498.

[Shiah et al., 2008] Shiah, J., Bhagat, R., Blanda, W. M., Nivaggioli, T., Peng, L., Chou, D., and Weber, D. A. (2008). Ocular implant made by a double extrusion process.

[Shubayev et al., 2009] Shubayev, V., Pisanic II, T., and Jin, S. (2009). Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Advanced drug delivery reviews*, 61(6):467–477.

[Sparrow JR, 1995] Sparrow JR, Jayakumar A, B. M. O. E. C. S. (1995). Experimental studies of the combined use of vitreous substitute of high and low specific gravity. *Retina*, 12(2):134–140.

[Sponsel, 2008] Sponsel, W. E. (2008). Use of intravitreal viscosurgical injection agents for repair of rhegmatogenous (bollous) retinal detachment.

[Starunov and Shchuko, 2007] Starunov, E. V. and Shchuko, A. G. (2007). Method of peripheral retinal ruptures treatment complicated with vitreal traction and subclinical retinal detachment.

[Stephen J. Ryan, 2009] Stephen J. Ryan, David R. Hinton, A. P. S. C. P. W. (2009). *Retina*, volume 3. Marbán, 4th edition.

[Stöhr and Siegman, 2006] Stöhr, J. and Siegman, H. C. (2006). *Magnetism From Fundamentals to Nanoscale Dynamics*. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K, Berlin, Germany.

[Swarnali Das, 2011] Swarnali Das, P. K. S. (2011). Nanosuspension: a new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. application to amphotericin b. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7(2):242–247.

[Swindle and Ravi, 2008] Swindle, K. E., H. P. D. and Ravi, N. (2008). In situ formation of hydrogels as vitreous substitutes: Viscoelastic comparison to porcine vitreous. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 87A:656–665.

[Takeaki Kawashima, 2011] Takeaki Kawashima, Nobuhiro Nagai, H. K. N. K. H. O. Y. I. N. O. M. N. T. A. (2011). A scalable controlled-release device for transscleral drug delivery to the retina. *Biomaterials*, 32:1950–1956.

[Tejada P, 1997] Tejada P, Méndez MJ, M. S. C. C. B. A. C. V. (1997). 1-octadecene as a solvent for ferrofluids for intraocular use. *Eur J Ophthalmol*, 7(3):288–293.

[Trese et al., 2012] Trese, M., Regatieri, C., and Young, M. (2012). Advances in retinal tissue engineering. *Materials*, 5(1):108–120.

[Tsonis, 2008] Tsonis, P. A. (2008). *Animal Models in Eye Research*. Elsevier Ltd., 1st edition.

- [Turismo y Comercio, 2008] Turismo y Comercio, M. d. I. (2008). *Aplicaciones industriales de las Nanotecnologías en España en el Horizonte 2020*. Fundación OPTI.
- [Varadan et al., 2008] Varadan, V., Chen, L., and Xie, J. (2008). *Nanobiomedicine: Design and Applications of Magnetic Nanomaterials, Nanosensors and Nanosystems*. John Wiley and Sons, Ltd, United Kingdom.
- [Vats et al., 2010] Vats, N., Wilhelm, C., Rautou, P., Poirier-Quinot, M., Pechoux, C., and Devue, C. (2010). Magnetic tagging of cell-derived microparticles: new prospects for imaging and manipulation of these mediators of biological information. *Nanomedicine*, 5(5):727–738.
- [Verstraeten TC, 1990] Verstraeten TC, Wilcox DK, F. T. R. C. (1990). Effects of silicone oil and hyaluronic acid on cultured human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 31(9):1761–1766.
- [Vo-Dinh, 2007] Vo-Dinh, T. (2007). *Nanotechnology in Biology and Medicine: Methods, Devices and Applications*. CRC Press, United States of America.
- [Wang et al., 2008] Wang, Y., Wang, X., Luo, G., and Dai, Y. (2008). Adsorption of bovin serum albumin (bsa) onto the magnetic chitosan nanoparticles prepared by a microemulsion system. *Bioresour Technol*, 99(9):3881–4. PT: J; TC: 0; UT: MEDLINE:17892932.
- [Wang et al., 2010] Wang, Z., Liu, J., Wu, S., Wang, W., and Zhang, L. (2010). Novel percolation phenomena and mechanism of strengthening elastomers by nanofillers. *PCCP. Physical chemistry chemical physics*, 12(12):3014–3030.
- [Weitschies et al., 2005] Weitschies, W., Kosch, O., Mönnikes, H., and Trahms, L. (2005). Magnetic marker monitoring: An application of biomagnetic measurement instrumentation and principles for the determination of the gastrointestinal behavior of magnetically marked solid dosage forms. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(8):1210.
- [West and Halas, 2003] West, J. L. and Halas, N. J. (2003). Engineered nanomaterials for biophotonics applications: improving sensing, imaging, and therapeutics. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 5:285–292. LR: 20061115; PUBM: Print; JID: 100883581; 0 (Biocompatible Materials); 0 (Fluorescent Dyes); 0 (Molecular Probes); RF: 15; ppublish.
- [Wetchakun and Phanichphant, 2008] Wetchakun, N. and Phanichphant, S. (2008). Effect of temperature on the degree of anatase-rutile transformation in titanium dioxide nanoparticles synthesized by the modified sol-gel method. *Current Applied Physics*, 8:343–346. PT: J; TC: 0; UT: CCC:000253365000032.
- [Whitcup and Weber,] Whitcup, S. M. and Weber, D. A. Extended therapeutic affect ocular implant treatments.
- [Wu and Shi, 2011] Wu, X.-G., X. M. Y. L.-N. and Shi, W.-Y. (2011). The biological characteristics and pharmacodynamics of a mycophenolate mofetil nanosuspension ophthalmic delivery system in rabbits. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100:1350–1361.

- [Xia et al., 2006] Xia, T., Kovochich, M., Brant, J., Hotze, M., Sempf, J., Oberley, T., Sioutas, C., Yeh, J., Wiesner, M., and Nel, A. (2006). Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano letters*, 6(8):1794–1807.
- [Xia et al., 2009] Xia, T., Li, N., and Nel, A. (2009). Potential health impact of nanoparticles. *Annual review of public health*, 30:137–150.
- [Xiang-Gen and Hao-Ran, 2011] Xiang-Gen, W., L.-N. Y. M.-X. and Hao-Ran, J. (2011). Anti-infectious activity of intravitreal injectable voriconazole microspheres on experimental rabbit fungal endophthalmitis caused by *aspergillus fumigatus*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100:1745–1759.
- [Yang et al., 2009] Yang, D., Yang, F., Hu, J., Long, J., Wang, C., and Fu, D. (2009). Hydrophilic multi-walled carbon nanotubes decorated with magnetite nanoparticles as lymphatic targeted drug delivery vehicles. *Chemical communications*, (29):4447–4449.
- [Ye and Yang, 2009] Ye, X. and Yang, D. (2009). Recent advances in biological strategies for targeted drug delivery. *Cardiovascular hematological disorders drug targets*, 9(3):206–221.
- [Yokochi et al., 1991] Yokochi, C., Rohen, J. W., and Weinreb, E. L. (1991). *Atlas Fotográfico de Anatomía del Cuerpo Humano*. Nueva Editorial Interamericana S.A de C.V., tercera edition.
- [Zborowski et al., 2003] Zborowski, M., Ostera, G. R., Moore, L. R., Milliron, S., Chalmers, J. J., and Schechter, A. N. (2003). Red blood cell magnetophoresis. *Biophysical journal*, 84(4):2638–2645. PT: J; TC: 34; UT: WOS:000183123100050.
- [Zhang and Liu, 2009] Zhang, K. and Liu, X. (2009). Controlled formation of colloidal structures by an alternating electric field and its mechanisms. *Journal of chemical physics online*, 130(18).
- [Zhao and Helseth, 2007] Zhao, X. and Helseth, L. E. (2007). Magnetophoresis of microspheres covered by magnetic nanoparticles. *Journal of Applied Physics*, 102. PT: J; TC: 2; UT: WOS:000249474100101.